



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

YÜKSEK YAĞLI DIYETİN RAT KARACİĞERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. KAYIHAN KARAÇOR

DÜZCE-2011



T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK YAĞLI DİYETİN RAT KARACİĞERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

DR. KAYIHAN KARAÇOR

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Prof. Dr. MERYEM ÇAM

TEZ DANIŞMANI

DÜZCE-2011

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden sınırsız şekilde faydalandığım, çok değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Meryem Çam'a; diyet içeriğinin belirlenmesinde katkıda bulunan Prof. Dr. İlnur Arslanoğlu'na; biyokimyasal çalışmanın planlanması aşamasında katkıda bulunan hocam Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilimdalı başkanı Prof. Dr. Özlem Yavuz'a; biyokimyasal analizlerin yapılmasında yardımcı olan arkadaşım Arş. Gör. Dr. Nuri Orhan'a ve Yrd. Doç. Dr. Hilmi Demirin'e; dokuların boyanması esnasında teknik olarak yardımcı olan patoloji bölümündeki tüm teknisyen arkadaşlara; istatistiksel analizleri yapan Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim dalında Arş. Gör. Erdal Coşgun'a; Hekim olmam için büyük fedakarlıklar gösteren, yetişmemde büyük katkıları olan aileme; tez çalışmam süresince büyük anlayış gösteren ve desteğini hep yanımda hissettiğim sevgili eşim Arş. Gör. Elif Kutay Karaçor'a

Teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Bu Tez Düzce Üniversitesi 2010.04.01.047 no'lu BAP projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Dr. Kayıhan KARAÇOR

2011

ÖZET

Bu çalışmada yüksek yağlı diyetin rat karaciğeri üzerine etkilerinin ve kilo alımındaki rolünün incelenmesi amaçlandı. Bu amaçla 30 adet Wistar Albino rat 4 gruba ayrıldı .

1. 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu (K16)
2. 16 haftalık yüksek yağlı diyet grubu (D16)
3. 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu (K20)
4. 20 haftalık yüksek yağlı diyet grubu (D20) grupları oluşturuldu.

Yüksek yağlı diyet; %60 yağ (1/3 kanola, 1/3 margarin, 1/3 ayçiçek yağı), %20 protein ve %20 karbonhidrattan, yüksek karbonhidratlı standart diyet; %69 karbonhidrat, %20 protein ve %11 yağdan (margarin) oluşturuldu.

Deney boyunca her hafta ratların vücut ağırlıkları ölçüldü. 16. hafta ve 20. hafta sonunda ratlara servikal dislokasyon uygulanarak, biyokimyasal inceleme için kardiyak kan alındı. Karaciğer ve epididimal yağ alınarak ağırlıkları ölçüldü. Karaciğerler ışık mikroskopik inceleme için takip edilerek hematoksilin-eozin, gomori trikrom boyaları yapıldı. α -SMA ve TGF- β primer antikoları kullanılarak immunohistokimyasal inceleme yapıldı. Kanda glukoz, albumin, insülin, trigliserid, total kolesterol, HDL, LDL, VLDL, LDH, ALT, AST bakıldı.

Vücut ağırlığı, karaciğer ağırlığı ve epididimal yağ ağırlığı karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık görülmedi. Biyokimyasal analiz sonucunda 16 haftalık yüksek karbonhidrat grubunda LDH, 20 haftalık yüksek karbonhidrat grubunda ALT anlamlı olarak yüksek bulundu. Histolojik incelemede ise tüm gruplarda portal alanda fibrozis, inflamasyon, steatozis bulguları görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi. İmmunohistokimyasal incelemede de tüm gruplarda α -SMA ve TGF- β tutulumu benzer bulundu.

Sonuç olarak bu çalışma göreceli olarak omega-9'dan zengin yüksek yağlı diyetle karşılaştırıldığında yüksek karbonhidratlı beslenmenin karaciğer hasarına ve

yağlanmaya yol açtığını, kilo alımı açısından anlamlı bir farklılık olmadığını göstermiştir. Bundan yola çıkarak diyetdeki karbonhidratları kısıtlayarak ve yüksek oranda omega-9 içeren zeytinyağı, kanola ve fındık yağı miktarı artırılarak karaciğerin korunabileceğini düşünöyoruz.

Anahtar Kelimeler: Obezite, Rat, Karaciğer, Yüksek Karbonhidratlı Diyet, Yüksek Yağlı Diyet

ABSTRACT

Aim of this study was to investigate effects of high fat diet on rat liver and weight gain. By this purpose 30 Wistar Albino rats were divided into 4 groups.

1. High carbohydrate diet group for 16 weeks (K16)
2. High fatty diet group for 16 weeks (D16)
3. High carbohydrate diet group 20 weeks (K20)
4. High fatty diet group 20 weeks (D20)

High fatty diet; %60 fat (1/3 canola, 1/3margarine, 1/3 sunflower oil), %20 protein, %20 carbohydrate and high carbohydrate control diet; %69 carbohydrate, %20 protein and %11 margarine was composed.

During study, rat body weights were measured every week. At the end of 16th and 20th week servical dislocation was applied to rats and for biochemical investigation blood sample was taken. Liver and epydidimal fat weight was measured. For light microscope investigation liver were followed and stained by hematoxilen-eozin and gomori tricrom. Using by α -SMA and TGF- β primer anticors immunohistochemical investigation was done. Glucose, albumin, insulin, triglyceride, total cholesterol, HDL, LDL, VLDL, LDH, ALT, AST in the blood were detected.

There weren't any significant differences between groups as compared to body weight, liver weight and epididymal fat weight. At the result of biochemical analysis, LDH in 16 weeks high carbohydrate diet and ALT in 20 weeks high carbohydrate diet was significant higher than high fatty diet groups. In histological research, even though fibrosis, inflamation, steatosis findings observed at portal area of all groups, there wasn't significant statistical differences. Similar to this, α -SMA and TGF- β accumulation in all groups were similar interms of immunohistological investigation.

In conclusion; this study showed that comparing to relatively high fatty diet rich with omega-9, high carbohydrate feeding caused liver injury and anointment and there wasn't significant differences in terms of weight gain. By this way, we think that decreasing of carbohydrate and increasing amount of olive oil, canola oil and hazelnut oil at which containing omega-9 in diet, liver can be protected.

Key Words: Obesity, Rat, Liver, High Carbohydrate Diet, High Fatty Diet

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Karaciğer Anatomisi	2
2.2. Karaciğerin Embriyolojisi	4
2.3. Karaciğerin Histolojisi	5
2.3.1. Karaciğer lobülü	5
2.3.2. Hepatosit	7
2.3.3. Sinüzoidler	8
2.3.4. Safra Kanalları	10
2.4. Karaciğerin Fizyolojisi.....	11
2.4.1. Kanın filtrasyonu ve depolanması.....	12
2.4.2. Karbonhidrat, yağ ve proteinlerin metabolize edilmesi	12
2.4.3. Safra yapımı	14
2.4.4. Vitaminlerin depo edilmesi	14
2.4.5. Demirin ferritin halinde depolanması	15
2.4.6. Bazı pıhtılaşma faktörlerinin karaciğerde üretimi	15
2.4.7. İlaçların ve hormonların karaciğerde metabolize edilmesi	15
2.5. Obezite	16
2.6. Non-alkolik Steatohepatitis ve Patogenezi.....	17
2.7. Omega Yağ Asitleri.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Işık Mikroskopik İnceleme	24
3.1.1. Doku takibi ve parafin blok hazırlama.....	24
3.1.2. Hematoksilen-eozin boyama yöntemi.....	25
3.1.3. Gomori-trikrom boyama yöntemi	26
3.1.4. İmmunohistokimyasal inceleme.....	26
3.2. Biyokimyasal Analiz.....	28
4. BULGULAR.....	30
4.1. Denek Ağırlıkları	30
4.2. Epididimal Yağ ve Karaciğer Ağırlıkları	31
4.3. Biyokimyasal Değerlendirme.....	32
4.4. Histolojik Değerlendirme.....	33
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ	55
7. KAYNAKLAR	56
8. EK	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

A: Arter

ALA: Alfa linolenik asit

α -SMA: Alpha smooth muscle actin

ALT: Alanin amino transferaz

AST: Aspartat amino transferaz

Cl: Klor

CoA: Koenzim A

DM: Diabetes Mellitus

DEHA: Dokozahekzaenoik asit

D16: 16 haftalık yüksek yağlı diyet grubu

D20: 20 haftalık yüksek yağlı diyet grubu

DAB: Diaminobenzidin

dl: desilitre

FGF: Fibroblast Growth Factor, Fibroblast Büyüme Faktörü

FFA: Free Fatty Acid, Serbest Yağ Asidi

gr: Gram

HDL: High Density Lipoprotein

HE: Hematoksilen-Eozin

HFD: High Fatty Diet

HCLF: High Carbohydrate Low Fat

HS: High Sucrose

Ig: Immunglobulin

IL-1 β : İnterlökin-1 Beta

Kcal: Kilo kalori

Kg: Kilogram

KC: Karaciğer

K16: 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu

K20: 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu

LA: Linoleik Asit

Lig: Ligament

LDL: Low Density Lipoprotein
LDH: Laktat Dehidrogenaz
LI: Liver Indeks
ml: Mililitre
mg: miligram
MUFA: Monounsaturated fatty acid, Tekli doymamış yağ asidi
N: Nervus
Na: Sodyum
NASH: Nonalcoholic steatohepatitis
PUFA: Polyunsaturated fatty acid, Çoklu doymamış yağ asidi
TNF- α : Tumor Nekrosis Factor Alfa
TGF- β : Transforming Growth Factor Beta
Tg: Trigliserid
TC: Total Kolesterol
TBS: Tris Buffered Saline
V: Ven
VLDL: Very Low Density Lipoprotein

1.GİRİŞ

Obezite çağımızın en önemli ve en sık görülen hastalıklarından biridir. Yaklaşık olarak dünya üzerinde yaşayan insanların 1.2 milyarı aşırı kilolu ve bunların en az 300 milyonu ise obezdir. Dünya sağlık örgütüne göre obezite en önlenebilir 10 hastalıktan biridir. Obezite basit olarak enerji alımı ve harcanması arasındaki dengesizlikle bağlantılı olarak düşünülür. Bununla birlikte, yapılan araştırmalar genetik, fizyolojik ve davranış faktörlerinin obezitenin etiolojisinde rol oynadığını göstermiştir (1).

Beslenme-obezite ilişkisi konusunda son yıllarda bir çok çalışma yapılmaktadır. Daha önceleri yüksek kalori içermesinden dolayı besinlerdeki yağların obezitenin gelişiminde öncü rol oynadığı düşünülürken son yıllarda bu düşüncenin aksine karbonhidratların obeziteyi indüklediğine yönelik bazı araştırmalarda yapılmıştır (1,2,3). Dr. Atkins'e göre obeziteyi tetikleyen besinlerdeki yağ ve proteinler değil karbonhidratlardır. Dr. Atkins'in kendi adını verdiği diyet yönteminde günlük karbonhidrat alımı maksimum 20 gr ile sınırlandırılmış olup protein ve yağlara herhangi bir sınırlama getirilmemiştir (1).

Obezite karaciğerde steatozis ve steatohepatitise neden olmaktadır. Normal bir karaciğer oksidatif strese dayanıklı iken yağlanmış bir karaciğer ise oksidatif strese karşı savunmasızdır. Araştırmacılar bunu iki darbe hipotezi ile açıklamaktadırlar. Obezite sonucu yağlanan karaciğerde oksidatif stress, TNF- α gibi sitokinler, mitokondrial fonksiyon bozuklukları, adiponektin ve leptin gibi hormonların etkisiyle inflamasyon ve fibrozis gelişir ve steatohepatitis oluşur (4).

Biz bu çalışmayla göreceli olarak omega-9'dan zengin yüksek yağlı diyetin karaciğer üzerine olan etkilerini araştırmayı hedefledik. Ayrıca yüksek yağlı diyetin mi yoksa ona eşdeğer(izokalorik) yüksek karbonhidrat diyetinin mi kilo alımında daha etkin bir rol oynadığını ve yüksek yağlı diyet içeriğinde kullanılan kanola yağında bulunan omega yağ asitlerinin karaciğer üzerine herhangi bir koruyucu etkisi olup olmadığını da bu çalışma ile ortaya çıkarmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Anatomisi

Vücutun deriden sonra en büyük organı olan karaciğer diafragmanın altında abdominal boşlukta yerleşmiştir (5). Ortalama ağırlığı 1400 gr olan bir organdır. Erişkinlerde vücut ağırlığının %2 sini karaciğer oluşturmaktadır. Bağ dokusundan oluşmuş bir kapsül olan Glisson kapsülü ile sarıdır. Kapsül aynı zamanda karaciğer damarları çevresinde organ içerisine uzantılar göndererek organı lobüllere ayırır. Karaciğer topografik olarak epigastriumun büyük bölümü, sağ hipokondrium ve sol hipokondriumun üst kısmının medialini kaplamaktadır (6). Karaciğer 4 lob tan oluşur. Lobus hepatis dexter ve lobus hepatis sinister büyük loblar, lobus caudatus ve lobus quadratus ise küçük loblardır. Karaciğerin diafragmatik yüzünde lobus hepatis dexter ve sinisterin sınırını lig. falciforme hepatis, visseral yüzde ise fissura ligamenti teretis ve fissura ligamenti venozi oluşturur (6).

Karaciğerin 2 yüzü bulunmaktadır. Anterior, süperior ve posterior yönlerde olan yüzlere facies diafragmatica adı verilirken inferior yöndeki yüzüne ise facies visceralis adı verilir. Facies diyafragmatica diyafragmanın alt yüzünde uzanır ve recessus subphrenicus diyafragmatik yüzü diyafragmadan ayırır (7). Facies diaphragmatica'nın büyük bir bölümü periton ile örtülüdür ve periton ile kaplı bu kısımlarına pars libera adı verilir. Bu yüzün pars posterioru ile lig. falciforme hepatis in iki yaprağı arasında kalan bölge ise peritonsuzdur ve bu bölge pars nuda(pars affixa) olarak adlandırılır. Facies diaphragmatica'nın pars süperior bölümünde kalbin karaciğer üzerinde bıraktığı bir iz olan impressio cardiaca bulunur. Bu yüzün arkaya bakan parçasını pars posterior oluşturur. Pars posterior da glandula suprarenalis dextranın oluşturduğu impressio suprarenalis bulunur (6).

Facies visveralis karaciğerin iç organlarla komşu olan yüzüdür. Bu yüzün de büyük bir kısmı periton ile örtülüdür. Sadece fissura ve fossaların bulunduğu kısımlar peritonla örtülü değildir. Bu yüzde fissura ve fossalar buldukları yer itibariyle büyük H harfini andırır. V.Porta Hepatis ortada olacak şekilde fissura ligamenti venozi sol üstte, fissura ligamenti teretis sol altta, sulcus vena cava sağ

üstte ve sağ altta ise safra kesesinin oturduğu bölüm olan fossa vesicae biliaris bulunur. Bu yüzde organlarla komşuluk yaptığı yerlerde organların yaptığı izler bulunur. Bunlar impressio renalis, impressio duodenalis, impressio colica, impressio gastrica ve impressio oesophagea dır (6).

Lig. teres hepatis, lig. falciforme hepatis ve lig. coronarium karaciğerin önemli ligamentleridir (6).

Karaciğer hilumunda, hepatik arter, portal ven ve safra kanalı sağ ve sol dallara ayrılır ve iki bölüm arasında çok az anastomoz bulunmaktadır (8).

Karaciğerin kanlanması 2 önemli damar sağlamaktadır. Bunlar a. hepatica propria ve v. porta hepatis tir. Karaciğere arteryel kan a. hepatica propria tarafından getirilirken, besin maddelerinden zengin venöz kan ise v. porta hepatis tarafından getirilir. A. hepatica propria karaciğer kanlanmasının % 20 sini sağlarken v. porta hepatis ise % 80 ini sağlamaktadır. Bu iki damarın interlobuler dalları ve safra kanallarının interlobuler dalları spatium interlobulare hepatis(Kiernan aralığı) adlı karaciğer lobüllerinin köşelerinin birleştiği yerde portal triadı oluştururlar. V. porta hepatisin dalları ve a.hepatica propria nın interlobüler dalları sinüzoidlere açılır. Böylece sinüzoidlere hem arteryel kan hemde portal venöz kan gelmiş olur (6). Kan sinüzoidlerden V. centralis'e doğru ilerlerken kan ile karaciğer arasında madde alışverişi gerçekleşir. Daha sonra v.centralisler birleşerek v.sublobularisleri, v. sublobularisler de birleşerek v. hepatica dextra ve v. hepatica sinistraları oluşturur. V. hepatica dextra ve sinistra ise V.cava inferior a açılır (6, 9).

Karaciğerin sempatik innervasyonu medulla spinalisin torakal 7-10 seviyeleri arasında columna intermediolateralis kaynaklıdır. Bu sinir lifleri plexus coeliacus ta sinaps yaparak N. splanchnicus major ile karaciğere gelir. Karaciğerin parasempatik innervasyonunu ise truncus vagalis anterior ve posteriorun rr. hepatici leri sağlar (6).

2.2. Karaciğerin Embriyolojisi

Karaciğer, safra kesesi ve safra kanalları 4. hafta başında ön barsağın kaudalinden ventral yönde bir endodermal çıkıntı olarak beliren hepatik divertikülden gelişir. Hepatik divertikül oluşumu, gelişmekte olan kalbin FGF'nin (fibroblast büyüme faktörü) bipotent hücreleri uyarmasıyla gerçekleşir. Hepatik divertikül kalp ve beden sapı arasında uzanan mezodermal bir doku kitlesi olan septum transversuma penetre olur ve proliferasyon olarak septum transversumun işgal eder. Septum transversum bu bölgede ventral mezogastriyumun oluşturur. Hepatik divertikül hızla büyür ve ventral mezogastriyumun iki yaprağı arasında büyüyen iki parçaya ayrılır. Geniş olan kranial parça karaciğer taslağını oluşturur. Çoğalan endodermal hücreler hepatosit kordonlarını ve intrahepatik safra kanallarını döşeyen epitel hücrelerini oluşturur. Hepatositlerin oluşturduğu kordonlar endotelle döşeli boşlukların çevresinde ağsı bir yapı oluşturarak sinüzoid taslaklarını meydana getirirler. Hemopoetik hücreler, bağ dokusu hücreleri ve Kupffer hücreleri septum transversum mezenşiminden köken alır (10).

Karaciğer hücreleri, organ karın boşluğuna çıkıntı yapacak şekilde septum transversumun tümünü işgal ettiğinde karaciğer ile ön barsak ve karın öndüvarı arasındaki septum transversum mezodermi membranöz hale gelir ve sırasıyla küçük omentum ve falsiform ligament meydana gelir (11).

Karaciğer 5. hafta ile 10. hafta arasında hızla büyüyerek üst abdominal boşluğun büyük bir kısmını doldurur. Karaciğerin gelişimini ve segmentasyonunu umbilikal vendeki kanın oksijen miktarı belirler. Başlangıçta sağ ve sol lob aynı büyüklüktedir, ancak kısa bir süre sonra sağ lob daha fazla büyür. Embriyonik karaciğer 6. haftada hematopoeze, 12. haftada ise safra üretimine başlar. Dokuzuncu haftada karaciğer total vücut ağırlığının yaklaşık %10 unu oluşturur (10).

Hepatik divertikül duodenumla ilişkisini safra kanallarıyla devam ettirir. Kaudal parçası safra kesesini oluştururken sapı ise sistik kanalı oluşturur. Başlangıçta ekstrahepatik safra yolları epitel hücreleri ile tıkalı iken daha sonra oluşan

dejenerasyon ve vakuolizasyon ile bu kanallar açılır. Safra kanalı(koledok kanalı) ise hepatik ve sistik kanalları duodenuma bağlayan kordondan gelişir. Başlangıçta bu kanal duodenum ön yüzüne açılırken daha sonra duodenumun büyümesi ve rotasyonu sonucu arka yüze taşınır. On üçüncü haftadan itibaren bu kanal ile duodenuma gelen safra mekonyuma yeşil rengini verir (10).

2.3. Karaciğerin Histolojisi

Karaciğer kollajen ve elastik liflerden zengin ince bir kapsül ile sarılıdır. Işınsal hücre kordonları şeklinde organize olan hepatositler parankimayı oluştururken, stroma; bağ dokusu, damarlar, sinirler, lenf damarları ve hepatosit kordonları arasında uzanan sinüzoid adı verilen özelleşmiş kapillerlerden oluşur (12).

Hepatositler birbirleriyle bağlantılı kordonlar şeklinde gruplaşma gösterirler. Karaciğer lobülü karaciğerin yapısal bir birimidir ve ortalama 0.7x2 mm boyutlarında poligonal bir doku kitlesidir. Bazı hayvanlarda bu lobüller bir bağ dokusu bölmesi ile birbirinden ayrılırlar ama insanda bu söz konusu değildir. Karaciğer lobüllerinin birbiriyle komşuluk gösterdiği köşelerde bulunan portal alan adı verilen bölgede bağ dokusu içinde v. porta dalı, a. hepaticanın bir dalı, safra kanalı ve lenfatikler bulunur. V. porta dalı, a. hepatica dalı ve safra kanalı üçlüsü portal triad olarak adlandırılır. Safra kanalları kübik epitel ile örtülüdür ve hepatositlerden gelen safraı hepatik kanal içine boşaltır (5).

2.3.1. Karaciğer lobülü

Karaciğerde fonksiyon gören yapısal birim karaciğer lobülü yani hepatik lobüldür. Hepatik lobül birbiri ile anastomoz yapan ve sinüzoid boşlukları ile çevrelenmiş hepatosit plaklarından meydana gelmiştir (13). Karaciğerin yapısal organizasyonunu ve fonksiyonlarını açıklamak için 3 farklı karaciğer lobülü tanımlanmıştır. Bunlar klasik karaciğer lobülü, portal lobül ve hepatik asinüstür (14).

2.3.1.1 Klasik karaciğer lobülü

Klasik karaciğer lobülü poligonal şekilde olup merkezde v. centralis ve köşelerde ise portal alanda yer alan portal triad bulunur. Sinüzoidlerden gelen kan lobülün merkezinde bulunan v. centralise drene olur. Hepatositler ışınsal olarak dizilmiş ve bir duvarın tuğlaları gibi düzenlenmişlerdir. Bu hücre plakları lobülün periferinden merkezine doğru yönelmişlerdir. Labirent şeklinde ve sünger benzeri bir yapı oluşturacak biçimde serbestçe anastomozlaşırlar. Bu plaklar arasında sinüzoid kapillerler uzanır. Klasik karaciğer lobülünde kan akışı periferden merkeze doğrudur. Safra ise kan akışının tam tersi yönde akar. Safra, safra kanaliküllerinden intralobüler safra kanallarına akar; daha sonra Hering kanalına geçerek portal alandaki safra kanallarına boşalır (13).

2.3.1.2 Portal lobül

Bu lobül sınıflandırması safranın salgılanışı esas alınarak yapılmıştır (12). Üç klasik karaciğer lobülünün v. centralislerinin birleştirilmesi ile portal lobülün sınırları çizilir. Portal lobülde, portal triad merkezde bulunur. Portal lobül de kan akışı merkezden perifere, safra akışı ise periferden merkeze doğrudur (13).

2.3.1.3 Hepatik asinüs

Karaciğer asinüsü kavramı karaciğerin yenilenme koşullarını, metabolik aktiviteyi ve siroz gelişimini tanımlamak açısından daha uygundur. Karaciğer asinüsü interlobuler damarlar ekseninde iki santral ven ve iki portal triad arasında yer alan oval biçimli şeklindeki bölgedir. Burada kan asinüsün merkezinden v. centralise doğru akar (15). Hepatik asinüs kanın besleme ve oksijenlendirme özelliğine göre 3 bölgeye ayrılır(13).

Zon 1 gerek besin gerekse oksijenden en zengin bölgedir. Zon 1 deki hücreler damarlara en yakın hücrelerdir. Bu bölgede kan lobülün merkezinden perifere doğru ilerlediğinden oksijen ve besinden zengin kanla karşılaşan zon 1 hücreleri sürekli

aktivite gösterirler. Bu bölge kanla karşılaşan ilk bölge olduğu için kanda bulunacak olası bir toksik maddede etkilenecek ilk bölge zon 1 dir (16,17).

Zon 3 merkezi vene en yakın olan bölümdür ve bu bölge oksijenden en fakir bölümdür. Dolayısıyla hipoksi durumunda ilk etkilenecek bölge zon 3 tür (13). Karaciğerde oluşan fizyolojik ve patolojik yağlanmanın ilk görüldüğü bölge 3. zondur. (17).

Zon 2 ise ara bir zondur, gerek oksijen gerekse besin maddesi açısından ara bir durumdadır (13).

2.3.2. Hepatosit

Hepatositler yaklaşık 20-30 µm çapında poligonal hücrelerdir. Genellikle ortada yer alan tek çekirdek bulunur. İki çekirdekli hücrelere de sık rastlanır. Çekirdek ökromatiktir ve bir veya daha fazla sayıda çekirdekçik içerir. Bazen poliploidi gösteren çekirdeklerde görülür. Sitoplazma çok sayıda mitokondriyon, granüllü endoplazma retikulumu, düz endoplazma retikulumu, iyi gelişmiş Golgi cisimciği, serbest ribozomlar, lizozomlar ve peroksizomlar içerir. Ayrıca çeşitli düzeylerde depolanmış glikojen partikülleri ve lipid damlacıkları bulunur(5). Hepatositler santral venden çevreye doğru ışınal bir şekilde uzanım gösteren kordonlar oluştururlar (18). Bu hepatosit kordonları arasında sinüzoid kapillerler uzanır. Hepatositler ile sinüzoidler arasında Disse aralığı bulunur.

Bir hepatositin 3 işlevsel yüzeyi bulunmaktadır:

- 1- Birbirine komşu olan iki hepatositin birbirine bakan yan yüzlerindeki oluklardan safra kanaliküllerinin meydana geldiği az mikrovillus içeren kanaliküler yüzey (ekzokrin salgı)
- 2- Disse aralığına bakan ve mikrovilluslar içeren sinüzoidal yüzey (endokrin salgı)
- 3- Birbirine komşu iki hepatositin birbirlerine temas eden yüzeyinde yer alan tutunma işlevine sahip bir yüzey (19).

Hepatositler bol miktarda düz ve granüllü endoplazmik retikulumu sahiptirler. Granüllü endoplazmik retikulum hepatositte sitoplazma içine saçılmış kümeler oluşturur ve bunlara bazofilik cisimler adı verilir. Bu yapılardaki poliribozomlarda albumin ve fibrinojen gibi bazı proteinlerin sentezi yapılır. Yine sitoplazma içinde yaygın olarak dağılmış olan düz endoplazmik retikulumda da çeşitli maddelerin vücuttan atılmadan önce etkisizleştirilmesi ya da detoksifikasyonu için gerekli oksidasyon, metilasyon ve konjugasyon işlemleri gerçekleştirilir. Düz endoplazmik retikulum karaciğer hücresi tarafından alınan maddelere hemen reaksiyon gösteren kararsız bir sistemdir. Bir hepatositte yaklaşık 2000 mitokondriyon bulunur(5), bu mitokondriler yuvarlak, uzun şekilli, yassı veya tübüler kristaya sahiptir ve hücresel işlevlerde kullanılmak üzere ATP sentezlerler(19). Hepatositlerde bulunan lizozomlar hücre içi organellerin yıkımı ve dönüşümünde görev alır. Peroksizomlar da lizozomlar gibi enzim içerirler ve fazla yağ asitlerinin oksidasyonu, oksidasyon sonucu oluşan hidrojen peroksidin yıkılması, pürinlerin fazlasının ürik aside yıkılması, kolesterol, safra asitleri ve miyelin yapımında kullanılan bazı lipidlerin sentezlenmesinde görev alırlar. Hepatositler aynı zamanda bol miktarda Golgi kompleksi de bulundurmaktadır. Her bir hepatositte yaklaşık 50 adet bulunan Golgi kompleksleri lizozomların oluşturulması, plazma proteinlerinin, glikoproteinlerin ve lipoproteinlerin salgılanmasında görev alır (5).

Karaciğerde glukoz hepatositlerde glikojen şeklinde depolanır ve kandaki glukoz seviyesi normal sınırın altına düştüğünde mobilize olur. Hepatositler bu şekilde kan glukozunu sabit bir düzeyde tutar. Hepatositlerde sık görülen diğer bir hücresel yapı da lipid damlacıklarıdır (5).

Hepatosit lobülün hem ekzokrin ve hem de endokrin salgı yapan hücresidir (13).

2.3.3. Sinüzoidler

Karaciğer lobülü içindeki hepatositler ışmsal bir dizilim gösterirler. Bu hepatosit kordonları arasında kalan boşlukta sinüzoid kapillerler bulunur.

Karaciğerdeki sinüzoidal kapillerler kesintili bir pencereleli endotel tabakasından oluşan düzensiz olarak genişlemiş damarlardır. Endotel hücrelerinin altındaki bazal lamina kesintilidir ve sinüzoidler ince bir retiküler lif ağıyla desteklenir (5). Sinüzoidler v.porta ve a. hepaticadan gelen kanı alır ve v. centralise açılırlar (17). V. centralisteki kan ise v. sublobularise dökülür. V. sublobularisler ise birleşerek v. hepaticayı oluşturur ve en sonunda v. hepatica olarak v. cava inferiora açılırlar (18).

Sinüzoid duvarı ile hepatositler arasında bulunan boşluğa Disse aralığı(perisinüzoidal aralık) denir(5). Disse aralığı içinde kan plazması dolaşır. Bu aralıkta retiküler lifler, hepatositlerin mikrovillusları ve İto hücreleri bulunur (18).

Sinüzoid duvarı ve disse aralığında 3 farklı hücre bulunmaktadır:

- 1- Endotel hücreleri
- 2- Kupffer hücreleri
- 3- İto hücreleri (Yıldızlı hücreler)

2.3.3.1. Endotel hücreleri

Endotel hücreleri sinüzoid duvarında bulunan ince sitoplazmalı, heterokromatik çekirdekli hücrelerdir. Endotel hücrelerinin sitoplazmasında küçük mikropinositik veziküller bulunur. Endotel hücreleri sinüzoid duvarı boyunca aralıklı bir şekilde yerleşirler (17). Gerek endotel hücrelerinin aralıklı yerleşimi, gerekse endotel hücrelerinin altındaki bazal laminanın kesintili olması kandan Disse aralığına madde geçişini kolaylaştırır (5).

2.3.3.2. Kupffer hücreleri

Sinüzoid duvarında endotel hücrelerine ek olarak mononükleer fagositer sistem hücresi olan Kupffer hücreleri olarak adlandırılan makrofajlarda bulunmaktadır. Kupffer hücrelerinin başlıca görevleri yaşlanmış eritrositleri ortadan kaldırmak, kalın bağırsaktan portal kan yoluyla gelen bakterileri fagosite etmek ve

immunolojik olaylarla ilgili proteinleri salgılamaktır. Karaciğer hücrelerinin %15'i Kupffer hücreleridir (5).

2.3.3.3. İto hücreleri

Karaciğer yıldız hücreleri olarak ta adlandırılan İto hücreleri perisinüzoidal aralıkta bulunurlar. Mezenşim kökenli olan İto hücreleri yağ içerirler ve vitamin A'nın depolanmasında görev alırlar. Karaciğerin patolojik durumlarında İto hücreleri tip I kollajen, laminin, proteoglikan ve büyüme faktörleri salgılayan hücelere dönüşürler.

Kupffer hücreleri tarafından üretilen sitokinler İto hücrelerini uyarak kollajen sentezini uyarır. Uyarılmış İto hücreleri kollajen lif üretir ve böylece disse aralığında kollajen birikimi olur. Bu da sinüzoidlerdeki endotel hücre aralıklarında ve pencerelerde kayıplara neden olur. Bu fibrotik süreç ilerledikçe İto hücreleri sinüzoid lümenini daraltan ve damar direncini arttıran miyofibroblastlara dönüşür. Karaciğer sirozunda meydana gelen portal hipertansiyonun oluşumu bu nedendir (13).

2.3.4. Safra Kanalları

Hepatositlerin birbirine bakan yüzlerinde tübüler aralıklar adı verilen aralıklar bulunur. Bu aralıklar safra kanal sisteminin ilk bölümüdür. Bu kanal yapısının her iki yanındaki hepatosit hücre zarları sıkı bağlantılarla birleşmiştir. Safra kanalcıkları lobül boyunca kompleks bir ağ oluşturur ve lobülün periferinde bulunan Herring kanallarına kanalcıklarda bulunan safra iletilir. Herring kanalları protal triadda bulunan safra kanalına açılır. Bu kanallar gittikçe genişler ve en sonunda birleşir. Böylece ductus hepaticus dexter ve ductus hepaticus sinister oluşur ve hepatositlerde üretilen safra bu kanallarla karaciğerden ayrılır (16).

Hepatositlerde üretilen safranın görevleri şunlardır:

- 1- Kolesterol, fosfolipidler, safra tuzları, konjuge bilirubin ve elektrolitlerin atılmasını sağlamak
- 2- Bağırsak lümeninde yağların emilimine yardımcı olmak
- 3- Enterohepatik dolaşım ile IgA yı bağırsak mukozasına taşımak
- 4- İlaçların ve diğer metallerin karaciğerde metabolize edilmesi sonucu oluşan artık ürünlerin uzaklaştırılması

Bir insan karaciğeri günde yaklaşık 600 ml safra üretebilmektedir. Safra organik bileşenler olan safra asitleri, fosfolipidler, kolesterol, bilirubin ve safra pigmentlerinden ve inorganik bileşenler olan Na ve Cl iyonlarından oluşmaktadır. Hepatositlerde üretilen safra asitleri primer safra asitleridir ve bunlar kolik asit ve kenodeoksikolik asittir. Primer safra asitlerine bağırsaklarda bakterilerin etki etmesi sonucu sekonder safra asitleri meydana gelir. Bunlar deoksikolik asit ve litokolik asitlerdir. Karaciğerde üretilen safra safra kesesinde depolanır ve yağların sindirimi için yemek sırasında duodenuma salınır (13).

2.4. Karaciğerin Fizyolojisi

Karaciğerin belli başlı görevleri şunlardır:

- 1- Kanın filtrasyonu ve depolanması
- 2- Karbonhidrat, yağ, protein, hormonların ve yabancı kimyasal maddelerin metabolize edilmesi
- 3- Safra yapımı
- 4- Vitamin ve demirin depolanması
- 5- Pıhtılaşma faktörlerinin üretimi
- 6- Albumin, akut faz proteinleri, steroid bağlayıcı protein ve hormon bağlayıcı protein sentezi (20,21)

2.4.1. Kanın filtrasyonu ve depolanması

Karaciğere dakikada yaklaşık 1350 ml kan ulaşır. Bu kanın 1050 ml'si portal ven yoluyla, 350 ml'si ise hepatik arter yoluyla karaciğere gelir. Karaciğere bu miktarda gelen kan kalp debisinin yaklaşık %27'sini oluşturmaktadır. Karaciğer genişleme özelliği olan bir organ olmasından dolayı kendi damarlarındaki kanı depolayabilir. Karaciğerin kendi damarlarındaki toplam kan volümü 450 ml dir ve bu da vucuttaki toplam kan hacminin %10'una denk gelir (20).

2.4.2. Karbonhidrat, yağ ve proteinlerin metabolize edilmesi

2.4.2.1. Karbonhidrat metabolizması

Karaciğerin karbonhidrat metabolizmasındaki temel işlevleri;

- Büyük miktarda glukojen depolama
- Glikoneogenez
- Galaktoz ve fruktozu glikoza çevirme
- Karbonhidrat metabolizması sırasında oluşan ara ürünlerden önemli

kimyasal maddelerin oluşturulması

Karaciğer kan glukoz seviyesinin normal sınırlarda bulunmasının devamı açısından önemli bir görev üstlenir. Kandaki glukozun fazlasını alır ve glikojen halinde depo eder ve kan şekerinin düştüğü durumlarda tekrar kana geri verir (20).

2.4.2.2. Yağ metabolizması

Karaciğerin yağ metabolizmasındaki işlevleri şu şekilde sıralanabilir:

- Enerji gereksinimleri için yağ asidi oksidasyonu
- Kolesterol, fosfolipid ve lipoprotein sentezi
- Karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi

Yağlardan enerji elde edilmesi için ilk önce yağlar yağ asidi ve gliserole ayrılır. Daha sonra yağ asitleri beta oksidasyona uğrayarak asetil CoA'ya dönüşürler.

Asetil CoA'da sitrik asit siklusuna katılır ve burada oksidasyona uğrayarak enerji elde edilmesinde rol oynar.

Karaciğerde üretilen kolesterol safra tuzu üretiminde kullanılır. Kolesterol ve fosfolipidler hücre zarının ve hücre içi yapıların oluşmasında ve hücre işlevleri açısından önemli olan hormon ve kimyasal maddelerin yapımında kullanılır (20).

Karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi vücutta en çok karaciğerde gerçekleşir. Sentezlenen yağ lipoproteinler aracılığıyla yağ dokusuna taşınır ve depo edilir (20).

2.4.2.3 Protein metabolizması

Karaciğerin protein metabolizmasındaki temel işlevleri;

- aminoasitlerin deaminasyonu
- amonyağın üreye dönüştürülerek vücuttan atılımı
- plazma proteinlerinin sentezi
- metabolik olaylar için önemli aminoasit ve diğer maddelerin birbirine

dönüştürülmesi

Aminoasitlerden enerji elde edilmesi için veya karbonhidrat ya da yağa dönüşebilmesi için ilk önce aminoasitlerin deaminasyonu gereklidir. Vücutta karaciğer dışında börek ve diğer dokularda da aminoasitlerin deaminasyonu gerçekleşir. Ama deaminasyon reaksiyonlarının önemli bir kısmı karaciğerde gerçekleşir (20).

Deaminasyon reaksiyonlarının bir ürünü olan amonyak karaciğerde üreye çevrilir ve böylece vücut sıvılarından amonyak uzaklaştırılmış olur. Deaminasyon reaksiyonları dışında kalınbağırsaktaki bakteriler tarafından da az miktarda amonyak üretilir. Karaciğerde üre oluşumuna engel bir patolojik durum olduğunda plazma amonyak seviyesi artar ve toksik bir durum yaratır (20).

Plazma proteinlerinin yaklaşık %90'ı karaciğerde sentezlenir. Karaciğer günde 15-50 gr arası plazma proteini üretebilir. Siroz gibi karaciğer patolojilerinde plazma protein seviyeleri düşebilir (20).

Karaciğerin bir diğer işlevi bazı aminoasitleri sentezleyebilmesi ve bu aminoasitlerden önemli kimyasal bileşikler oluşturabilmesidir. Non-esansiyel aminoasitlerin hepsi karaciğerde sentezlenebilmektedir (20).

2.4.3. Safra yapımı

Karaciğerin önemli fonksiyonlarından bir tanesi de safra yapımıdır. Karaciğerden günlük ortalama 600-1000 ml safra salgılanmaktadır. Safranın birinci görevi yağların sindirimi ve emiliminde rol oynamaktır (20). Safrayı oluşturan bileşenler su, safra tuzları, safra pigmentleri, kolesterol, inorganik tuzlar, yağ asitleri, lesitin ve yağ'dan oluşmaktadır (21). Safradaki safra asitleri büyük yağ partiküllerinin lipaz enzimleri tarafından parçalanabilecek çok sayıda küçük parçalara ayrılmasına ve yağ sindiriminin son ürünlerinin barsak mukozasından emilimine yardım ederler. Safranın ikinci görevi kandaki çeşitli yıkım ürünlerinin atılmasında rol oynamaktır

Safra kesesinin kasılmasını sağlayarak safra salgılanmasını başlatan en güçlü uyarı kolesistokinin hormonudur. Dudodenuma yağlı besinlerin ulaşmasıyla duodenum duvarından kolesistokinin salınımı uyarılır(20).

2.4.4. Vitaminlerin depo edilmesi

Karaciğerin diğer görevlerinden bir tanesi de vitaminleri depo etmektir. Karaciğerde A vitamini, D vitamini ve B12 vitamini depo edilmektedir. Bu vitaminler içinde en fazla depo edileni A vitamini dir. A vitamini yaklaşık 10 ay süre boyunca vücudun A vitamini ihtiyacını karşılayabilmektedir. Karaciğerde depolanan D vitamini 3-4 ay, B12 vitamini ise 1 yıl süresince vücuda yetecek miktardadır (20).

2.4.5. Demirin ferritin halinde depolanması

Kandaki hemoglobinin yapısında bulunan demir dışında vücuttaki demir en fazla karaciğerde ferritin olarak depo edilmektedir. Karaciğer hücrelerinde bol miktarda bulunan apoferritin demirle birleşebilme özelliği gösterir. Böylece vücut sıvılarında demir miktarının arttığı durumlarda demir apoferritin ile birleşerek ferritini oluşturur ve gerektiğinde kullanılmak üzere karaciğer hücrelerinde depolanır. Dolaşımda demir miktarı azaldığında ise karaciğerde bulunan depo demir dolaşıma verilir (20).

2.4.6. Bazı pıhtılaşma faktörlerinin karaciğerde üretimi

Pıhtılaşma faktörlerinin birçoğu karaciğerde sentezlenir. Pıhtılaşma faktörlerinden protrombin (faktör II), faktör VII, faktör IX ve faktör X'in meydana gelmesinde K vitamininin rolü vardır. K vitamini eksikliğinde bu pıhtılaşma faktörlerinin serum düzeyi azalır ve pıhtılaşma mekanizması aksar (20).

2.4.7. İlaçların ve hormonların karaciğerde metabolize edilmesi

Penisilin, sülfonamid, eritromisin gibi bazı ilaçlar karaciğerde metabolize edilerek safra ile vücuttan uzaklaştırılır. Yine vücuttaki iç salgı bezlerinden salgılanan hormonlar olan östrojen, kortizol, aldosteron gibi steroid hormonlar ve tiroksinde karaciğer tarafından metabolize edilir. Karaciğer fonksiyonlarını bozacak herhangi bir hastalık varlığında karaciğer bu fonksiyonlarını yapamaz duruma gelir ve gerek ilaçların gerekse hormonların serumdaki seviyeleri artar (20).

2.5. Obezite

Günümüzde obezite en önemli sağlık sorunları arasında yer almaktadır. Obezite en basit şekliyle vücuttaki yağ miktarının fazlalığı olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda gelişmiş ülkelerde beslenme ve yaşam biçiminin değişimi nedeniyle obezite prevalansında artış görülmektedir. Yapılan çalışmalarla bizim gibi gelişmekte olan ülkelerde de prevalansın yüksek olduğu gösterilmiştir (22). Obezite etyolojisinde genetik, endokrin, metabolik, yanlış beslenme ve fiziksel aktiviteyi azaltan sosyal ve çevresel faktörler önemli etkenlerdir. Toplumlar modernleştikçe daha mekanize hale gelmekte ve enerji harcamayı gerektiren işler azalmaktadır. Fiziksel aktivitenin azalmasına karşın damağa hitap eden yüksek enerjili besinlerin tüketimi de artmaktadır (23). Obezitenin sıklığındaki artış metabolik, endokrin ve yapısal sorunları da beraberinde getirdiğinden önemlidir.

Obezitenin tedavisi, yaşam tarzı değişikliği ve medikal tedavi olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Kilo kaybının sağlanması ve kilonun korunmasındaki temel basamaklardan biri, yeni bir beslenme alışkanlığının kazanılmasına yardımcı olmaktır. Diyet hastanın sosyo-ekonomik koşulları ve yaşam biçimine uygun, sürekli uygulanabilir nitelikte, çok öğüne bölünmüş, lif içeriği yüksek, yeterli protein ve vitamin içeren, değişime açık, dengeli ve ucuz olmalıdır. Günlük kalori gereksinimi erkeklerde 30-35 kcal/kg/gün kadınlarda 25-30 kcal/kg/gün olarak hesaplanmaktadır. Günümüzde kilo vermek için temel olarak iki diyet uygulanmaktadır (22).

Birinci yöntem günlük kalori tüketiminin kısıtlanmasına dayanır. Günlük ihtiyacın 500-1000 kalori eksikliği olarak verilir (22). Yüksek kalorili olduğu için özellikle yağ kısıtlanır.

İkinci yöntem de sadece karbonhidratlar kısıtlanmaktadır. Yağ ve proteinler istendiği kadar tüketilebilir (1,2,3).

Bazı araştırmacılar kilo alımına yağlı yiyeceklerin (24,25) neden olduğunu savunurlarken bazıları da karbonhidratların kilo alımında daha etkili olduğunu ileri

sürmektedir (1,2,3). Bu teze göre karbonhidrat alımı hızlı insülin salgılanmasını uyarır. Bunun sonucunda kan şekeri hızla düşer ve kandan dokulara geçen karbonhidrat yağa dönüşür. Hızlı kan şekeri düşmesi acıkmaya ve tekrar beslenmeye neden olduğundan giderek insülin direncine ve obeziteye yol açar (1,2,3). Oysa Karbonhidrattan fakir ve yağdan zengin diyet yavaş insülin salınımına neden olmakta, kan şekerinde hızlı düşüş olmaması nedeniyle acıkmayı geciktirmekte ve fazla besin alınmasını önlemektedir. Bundan hareketlerle yağ ve proteinlerin serbest bırakıldığı ve karbonhidrat kısıtlamasının yapıldığı diyetler uygulanmaktadır (1,2,3).

Öte yandan yüksek yağlı diyetin obeziteye neden olmasının yanı sıra karaciğer yağlanması ve NASH'ye neden olduğunu gösteren yayınlar bulunmaktadır (24,25).

2.6. Non-alkolik Steatohepatitis ve Patogenezi

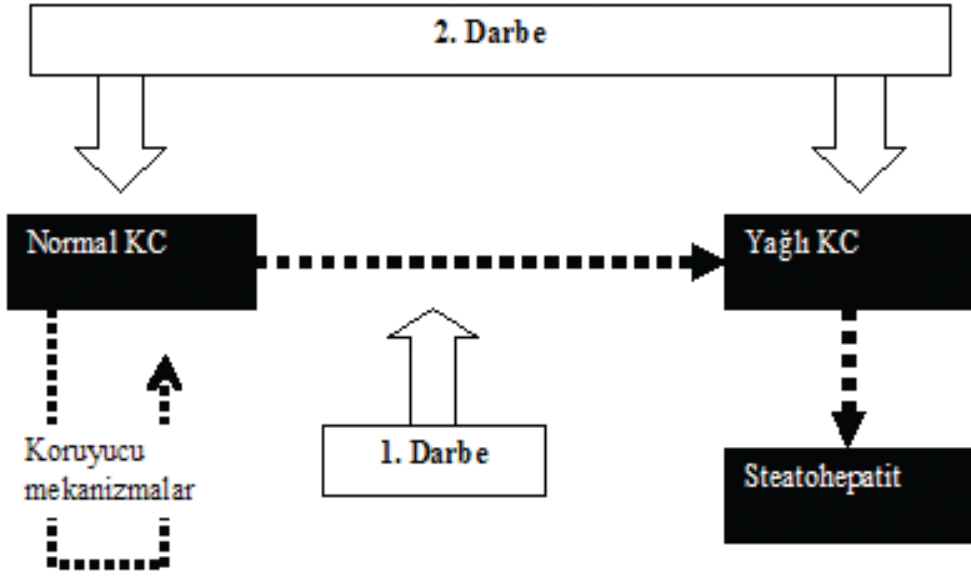
NASH steatozis, periportal ve lobuler inflamasyonla oluşan bir karaciğer hastalığı olarak tanımlanmaktadır. Hastalığın başlangıç aşamasında karaciğerde yağ birikimi boyunca klinik belirtiler görülmez. İlerleyen aşamalarda, fibrozis gelişir ve sonunda bazı hastalarda siroz oluşumuna neden olan histolojik değişiklikler ortaya çıkabilir, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, glikojen çekirdeği ve Mallory hyalin cisimciği görülür. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı Amerikada genel popülasyonun %10-24'ünde görülen en yaygın kronik karaciğer hastalığı olarak bilinmektedir, Avrupa ve Japonyada da bu oran geçerlidir (26).

İki tip NASH bulunmaktadır. Birincil NASH metabolik sendrom ile bağlantılı obezite, tip 2 DM ve hiperlipidemi nedeniyle ve ikincil NASH obeziteye bağlı intestinal cerrahi, obezlerde hızlı kilo kaybı, total parenteral beslenme, amiodaron yada perheksilin maleat gibi ilaçlarla tedavi, lipodistrofi yada Wilson hastalığı gibi nedenlerle oluşur (26).

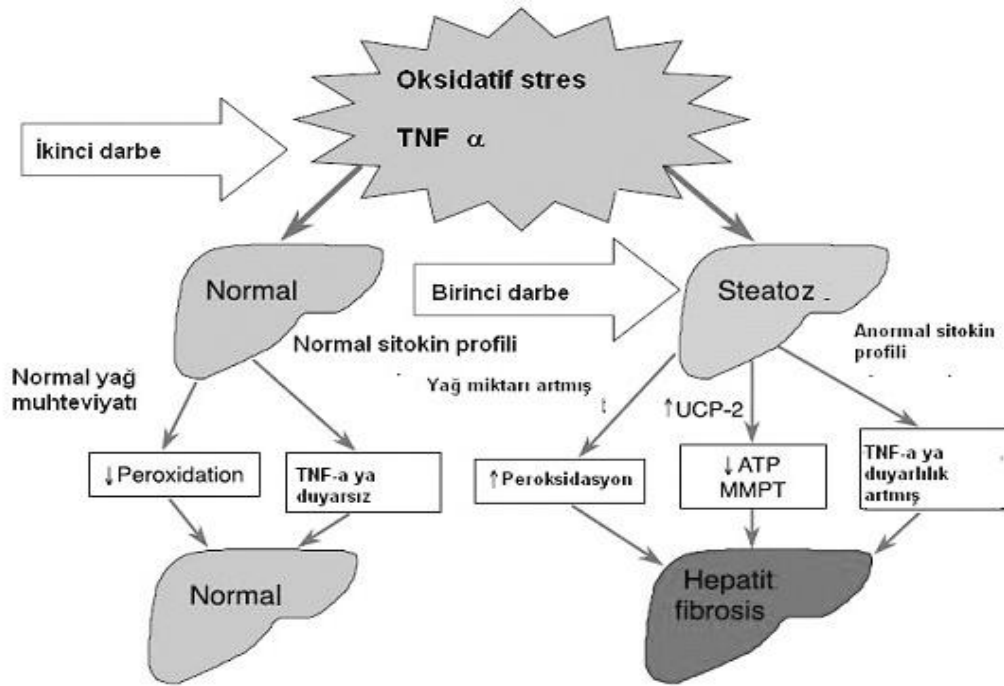
Tip 2 DM ve obezitede NASH'nin gerçek yaygınlığı bilinmemektedir. Tip 2 DM li hastaların % 75 inin farklı derecelerde Non alkolik yağlı karaciğer formlarına sahip olduğu tahmin edilmektedir. NASH'nin insülin direncinin klinik özellikleri ile olduğu kadar hiperinsülinemi ile de ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Her ne kadar obezite ile ilişkilendirilse de, steatozisin obezlerin %70 inde zayıf hastaların %35 inde ve NASH'nin obezlerin %18.5'inde ve zayıf hastaların %2.7'sinde görüldüğü bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda bu oran %95'in üzerinde bulunmuştur. Obez hastalarda basit steatozisin yaygınlığı %60 dolaylarında iken NASH nin yaygınlığı %20-25 ve sirozun yaygınlığı %2-3 tür (26).

Day ve arkadaşlarına göre NASH'nin patogenezi iki aşamayı içermektedir. Birinci aşamada sağlıklı karaciğer steatotik olur. Bu insülin periferal direncinin ana sonucu olurken adipoz dokudan karaciğere yağ asidi geçişi artmaktadır. Bazı koruyucu mekanizmalar bu problemi çözmek için çalışsa da yağlı karaciğer çoğu durumda etanol yada bakteriyel lipopolisakkarit gibi etkenlerle kırılabilir ve yaralanabilir durumdadır. Daha sonra oksidatif stres ve sitokinlerle (TNF- α) ikinci aşama meydana gelir. Bu durum insülin direncinin şiddetlenmesine, oksidatif strese ve hepatositlerde organel disfonksiyonuna yol açar, inflamatuvar süreç hepatoselüler dejenerasyon ve fibrozisle sonuçlanır (26).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının temel bulgusu karaciğer hücrelerindeki yağ birikimidir. Yağlanmış karaciğerde daha sonra farklı mekanizmalarla inflamasyon, fibrozis ve diğer değişiklikler meydana gelir. Yağlanma ile sonuçlanan hastalık süresince (birinci darbe) insülin direnci belirleyici bir rol oynar. İkinci darbe sonucu oluşan inflamasyon ve fibroze ise oksidatif stres, mitokondrial fonksiyon bozuklukları, TNF- α gibi sitokinler ile adiponektin, leptin gibi hormonlar sorumludur. Bu patogenezdaki hipoteze iki darbe hipotezi adı verilir. İkinci darbeden sorumlu faktörlerin normal yağlanmamış bir karaciğer üzerindeki etkileri adaptasyon mekanizmaları ile önlenirken, yağlanmış bir karaciğerde ise bu faktörlerin etkileri önlenemez ve ikinci darbe sonucu inflamasyon ve fibrozis ortaya çıkar (4).



Şekil 1: Two hits hipotezi (4).



Şekil 2: Karaciğer yağlanması ve NASH'nin patogenezi (4).

İnsülin direncinin yağlı karaciğer oluşumundaki etkin rolü bu hastalığı metabolik sendrom ile ilişkili bir konuma getirmektedir. Öyleki karaciğer yağlanması

saptanan olguların çoğunda obezite, tip II diabet ve hiperlipidemi gibi metabolik sendromla ilişkili klinik problemlerde gözlenmektedir (4).

Matteoni ve arkadaşları 1999 yılında yaptığı sınıflama ile yağlı karaciğer hastalığının prognozunu ve doğal seyri üzerindeki histopatolojik etkileri göstermek amacıyla hastalığı 4 farklı tipe ayırmışlardır:

Tip 1: Karaciğerde sadece yağlanma bulunanlar (Hepatosteatoz)

Tip 2: Yağlanma + Lobüler inflamasyon

Tip 3: Yağlanma + Balonlaşma dejenerasyonu

Tip 4: Yağlanma + Balon dejenerasyonu + Mallory cisimciği veya fibrozis (4).

2.7. Omega Yağ Asitleri

NASH ve obezite gelişiminde yağ içeriklerindeki omega yağ asitlerinin miktarının bu gidişatı belirlemede önemli bir role sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (27-37).

Doymamış yağ asitlerinden olan omega yağ asitleri, ilk çifte bağın metil grubuna en yakın kaçınıcı karbonda olduğuna göre omega-3, omega-6 ve omega-9 yağ asitlerine ayrılırlar. Omega-3 ve omega-6 yağ asitleri poliansature, omega-9 yağ asiti olan oleik asit ise monoansature bir yağ asitidir (38).

Omega-3 yağ asitleri insan vücudunda sentezlenemeyen ve dışarıdan alınması zorunlu olan bir yağ asitidir. Esansiyel yağ asitlerinden biri olan omega-3 yağ asitlerinin bir çok önemli fonksiyonu bulunmaktadır:

- Hücre membranının fosfolipid yapısında bulunurlar
- Hücre sinyal sistemini düzenlerler
- Gen ekspresyonuna ve biyosentetik fonksiyonların oluşumuna yardımcı olurlar.
- Eikozanoidlerin oluşumunda görev alırlar (38).

Alfa-linolenik asit(ALA) omega-3 yağ asitlerinin kaynağını oluşturur. ALA 18 karbonludur ve 3 çifte bağ içerir. ALA insan vücudunda bulunan desatüras ve elongaz enzimleri sayesinde eikozapentaneoik asit ve dokozapentaneoik asit gibi metabolitlere dönüşür (38).

Omega-3 yağ asitleri daha çok balık, kırmızı et, yumurta ve keten tohumunda bulunur (38).

Omega-6 yağ asitlerinin kaynağını ise linoleik asit (LA) oluşturur. LA 18 karbonludur ve 2 çift bağ içerir. Omega-3 yağ asitleri gibi omega-6 yağ asitleride esansiyel yağ asitleridir. Dihomo-gamma linoleik asit ve araşidonik asit LA'nın metabolitleridir. Omega-6 yağ asitleri en çok mısır, soya, pamuk, ayçiçeği gibi yağlarda bulunmaktadır (38).

Omega-6 yağ asitlerinin metabolitleri inflamatuvar, trombotik, mitojenik ve hiperalezik etki göstermektedir. Omega-3 yağ asitleri ise omega-6 yağ asitlerinin etkilerinin tam tersi olan antiinflamatuvar, analjezik, antimitojenik ve antitrombotik özellik gösterir ve böylece omega-3 yağ asitleri omega-6 yağ asitlerinin etkilerini kontrol altına alır (38).

Taş devri diyetinde omega-6 yağ asitlerinin omega-3 yağ asitlerine oranı 1:1 idi. Fakat son yüzyılda serum kolesterol seviyelerini düşürmek amacıyla soya, pamuk, ayçiçeği ve mısır yağlarının fazla kullanılması ve buna ilaveten hayvansal proteinlerin ve yeşil sebzelerin daha az tüketilmesi sonucu omega-6 ile omega-3 arasındaki bu oran 20-50:1'e kadar çıkmıştır (38).

Omega-3 yağ asitleri antiinflamatuvar, antitrombotik, antiaritmik, antitrombojenik, vasodilatör ve hipolipidemik etkilere sahiptir. Bu nedenle omega-3 yağ asitleri koroner kalp hastalıkları, hipertansiyon, tip 2 DM, çeşitli kanserlerin önlenmesi ve tedavisinde çok önemli etkilere sahiptir (38).

Omega-3 yağ asitleri glukozu yağa dönüştüren yağ asidi sentaz enzimini inhibe eder ve böylece yağ depolanmasını azaltır. Dokozahekzaenoik asidin (DEHA) alfa-linolenik asite(ALA) göre yağ depolanmasını azaltıcı etkisi daha fazladır. DEHA buna ilaveten insülin direncini azaltarak ta zayıflamayı sağlamaktadır (38).

Omega-9 yağ asitleriyle ilgili yapılan bir çok çalışmada dokular üzerinde koruyucu etkisi olduğu bildirilmektedir (27-29;39-48). Omega-9 ya asitleri en çok zeytinyağı ve kanola yağında bulunmaktadır. Kanola yağı yaklaşık %9-11 oranında omega-3(linoleik asit) ve %56 oranında da omega-9 yağ asidi(oleik asit) içermektedir (48). Omega-9 yağ asitleri tekli doymamış yağ asitleri grubunda bulunur ve en bilinen örneklerinden birisi oleik asittir.

Bazı araştırmacılar kilo alımına ve NASH'ye yağlı yiyeceklerin neden olduğunu savunurlarken bazıları da karbonhidratların kilo alımında daha etkili olduğunu söylemektedir. Buna göre alınan karbonhidrat hızla insülin salınımını uyarır. Bunun sonucunda kan şekeri hızla düşer ve kandan dokulara geçen karbonhidrat yağa dönüşerek depolanır (1,2,3).

Amerikalı uzman Atkins tarafından geliştirilen Atkins diyetinde yağ ve protein serbest bırakılırken şekerli tüm besin maddeleri yasaklanmıştır. Atkins diyetinde temel amaç; karbonhidrat seviyesi düşürülerek vücudun enerji gerektiğinde yağları yakmasıdır (1).

Bu çalışmayla göreceli olarak omega-9 dan zengin yüksek yağlı diyetin karaciğer üzerine olan etkilerini araştırmayı hedefledik. Ayrıca yüksek yağlı diyetle ona eşdeğer (izokalorik) yüksek karbonhidratlı diyetin kilo alımındaki etkilerini karşılaştırmayı ve yüksek yağlı diyetle kullanılan yağlardan biri olan kanola yağında bulunan omega-9 yağ asitinin karaciğer üzerine herhangi bir koruyucu etkisi olup olmadığını da ortaya çıkarmayı amaçladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma deney hayvanları etik kurulunun 2009-20 sayılı onayı alınarak gerçekleştirilmiştir. Tüm ratlar üniversitemizin Deney Hayvanları Araştırma Merkezinden temin edilmiştir.

30 adet erkek Wistar Albino ratı 28 günlük iken 4 gruba ayrıldı.

- 1- 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu(K-16 grubu) (n=7)
- 2- 16 haftalık yüksek yağlı diyet grubu (D-16 grubu) (n=8)
- 3- 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu (K-20 grubu) (n=7)
- 4- 20 haftalık yüksek yağlı diyet grubu (D-20 grubu) (n=8)

Tüm ratlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık bir ortamda ve oda sıcaklığında(ortalama 22°C) tutuldular. Ratların buldukları kafeslerin düzenli olarak bakımları yapıldı. Ratların gerek yem gerekse suya serbest erişimi sağlandı. Her hafta düzenli olarak ratların ağırlıkları ölçüldü.

Deney grubuna yüksek yağlı diyet (%60 yağ, %20 karbonhidrat, %20 protein) verildi. Diyetteki yağın 1/3 ü kanola yağı, 1/3 ü ayçiçek yağı ve 1/3 ü margarinden oluşmuştur. Buna ek olarak yemlerde selüloz, kül, NaCl, Ca, P, Na, lizin, metiyonin, Mn, Zn ve A,D,E ve K vitaminleri bulunmaktadır.

Kontrol grubuna ise izokalorik standart diyet (%69 karbonhidrat, %20 protein, %11 yağ) verildi. Standart diyet yağ olarak sadece margarin içermektedir. Buna ek olarak yemlerde selüloz, kül, NaCl, Ca, P, Na, lizin, metiyonin, Mn, Zn ve A,D,E ve K vitaminleri bulunmaktadır.

Onaltıncı hafta ve 20. haftaların sonunda ratlara eter anestezisi altında servikal dislokasyon uygulandı. Karaciğer, epididimal yağ dokusu ve kanları alındı. Dokular alındıktan hemen sonra hassas terazide ağırlıkları ölçüldü ve daha sonra %10'luk formaldehit solüsyonuna alındı. Bu dokular 48 saat formaldehit solüsyonunda fiske edildikten sonra uygun boyutlarda kesilerek kasetlendi ve daha

sonra takip edilerek parafin bloklara gömüldü. Alınan kesitler hematoxilen eozin ve gomori üçlü boya yöntemiyle boyandı. α -SMA ve TGF- β primer antikorları kullanılarak immunohistokimyasal boyamalar yapıldı. Alınan kanlarda glikoz, albumin, insülin, trigliserid, total kolesterol, HDL, LDL, VLDL, ALT ve AST bakıldı.

3.1. Işık Mikroskopik İnceleme

3.1.1. Doku takibi ve parafin blok hazırlama

Dokular kasetlendikten sonra sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirildi. Düşük dereceli etil alkolden yüksek dereceli alkole doğru kaplardan geçirilerek ve asetonda bekletilerek dokuların suyunun alınması ve dokuların sertleşip mikrotomda kesime uygun hale gelmesi sağlandı. Daha sonra ksilen de şeffaflaştırıldı. En sonunda 75 °C sıcaklıktaki etüvde erimiş parafin içinde bekletildikten sonra gömme işlemi gerçekleştirildi.

1 - %70'lik etil alkolde 15 dakika

2 - %80'lik etil alkolde 15 dakika

3 - %90'lik etil alkolde 30 dakika

4 - %90'lık etil alkolde 30 dakika

5 - %96'lık etil alkolde 30 dakika

6 - %96'lık etil alkolde 30 dakika

7 - %96'lık etil alkolde 45 dakika bekletildi.

8 – Asetonda 45 dakika bekletildi. Bu aşamadan sonra ksilen aşamasına geçildi.

9 – Ksilende 30 dakika bekletildi. Böylece dealkolizasyon ve dokuların şaffaflaştırılması sağlanmış oldu. Bu aşamadan sonra dokular etüvdeki sıvı parafin içine alındı.

10 – Parafin aşaması: Dokular 75 °C sıcaklıktaki etüv içerisindeki sıvı parafin içinde 40 dakika bekletildi.

11 – Döküm aşaması: Dokular etüv içerisindeki parafinde bekletildikten sonra içinde parafin bulunan metal gömme kaplarının içerisine yerleştirildi ve sertleşmesi için soğumaya bırakıldı. Böylece dokularımız parafin blok haline getirildi.

Parafin bloklardan Leica RM2245 mikrotomla ve Accu-Edge 4980 marka metal mikrotom bıçakları kullanılarak 3 mikron kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler ilk önce sıcak su havuzuna alınarak düzleştirildi, daha sonra lam üzerine alınarak boyamaya hazır hale getirildi. Lam üzerine alınan bu dokuların bir kısmı genel histolojik değerlendirme ve yağlanmayı değerlendirmek için Hematoksilen-Eozin, bir kısmı bağ dokusu ve fibrozisi görmek için Gomori-Trikrom ile boyanmıştır. Boyanan kesitler Olympus C-5050 fotomikroskofta incelenerek resimleri çekildi.

3.1.2. Hematoksilen-eozin boyama yöntemi

- 1- Parafin kesitler 75°C sıcaklıktaki etüvde 40 dakika bekletildi. Böylece doku dışındaki parafinin erimesi sağlandı.
- 2- İki ayrı ksilen kabında 15'er dakika olmak üzere toplam 30 dakika ksilende bekletildi. Böylece doku içi parafinin erimesi sağlanmış oldu.
- 3- %96'lık etil alkole 10 defa
- 4- %80'lik etil alkole 10 defa
- 5- %70'lik etil alkole 10 defa daldırıldı.
- 6- Akan suda yıkandı.
- 7- Hematoksilende 2 dakika bekletildi.
- 8- Akan suda yıkandı.
- 9- Asit alkole 2 defa daldırıldı.
- 10- Akan suda yıkandı.
- 11- Amonyaklı suya 2 defa daldırıldı.
- 12- Akan suda yıkandı.
- 13- %70'lik etil alkole 10 defa daldırıldı.
- 14- Eozine 10 defa daldırıldı.
- 15- Akan suda yıkandı.

- 16- %70'lik etil alkole 10 defa
- 17- %80'lik etil alkole 10 defa
- 18- %96'lık etil alkole 10 defa daldırıldı.
- 19- 1-2 dakika etüvde bekletildi.
- 20- Ksilende 10 dakika bekletildi.
- 21- Üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

3.1.3. Gomori-trikrom boyama yöntemi

3 mikron kalınlığındaki parafin kesitler sırasıyla şu işlemlere tabi tutuldu:

- 1 - Önce 45 dakika 75 °C lik etüvde, sonra 30 dakika ksilende deparafinize edildi.
- 2 - Sırasıyla % 96-80-70 alkollerde 10 ar defa daldırılarak hidrate edildi.
- 3- Sonra bol suyla yıkandı.
- 4 - Bouin solusyonunda etüvde 75 derecede 30 dakika bekletildi.
- 5 - 3 ayrı kapta bol suyla yıkandı.
- 6 - Hematoksilende 1 dk tutuldu.
- 7 - 3 ayrı kapta bol suyla yıkandı.
- 8 - Trikrom solusyonunda 45 dk tutuldu.
- 9 - % 0,5'lik Asetik asitle diferansiye edildi.
- 10 - Suyla yıkandı.
- 11 - Küçük dereceden büyüğe doğru alkollerden (%70-%80-%96) herbirine 10 defa daldırılıp geçirilerek dehidrate edildi.
- 12 - 1-2 dakika etüvde bekletilerek kurutuldu.
- 13 - 10 dakika ksilende bekletildi.
- 14- Üzerine entellan damlatılarak lamelle kapatıldı.

3.1.4. İmmunohistokimyasal inceleme

Bu çalışmada ayrıca dokular immunohistokimyasal olarak ta değerlendirilmiştir. Parafin kesitlerin bir kısmına hepatik fibrozisi daha iyi

değerlendirmek için α -Smooth Muscle Actin(SMA) Concentrated and Prediluted Monoclonal Antibody(Biocare Medical, Lot:062410) ile immun boyama yapılmıştır. α -SMA dokulardaki düz kas hücrelerini, miyofibroblastları ve miyoepitelyal hücreleri işaretler. İto hücreleri de fibrozis oluşumunda rol alırlar ve α -SMA salgırlar.

Karaciğer dokusundaki hepatosit hasarını tespit etmek için TGF- β (transforming growth faktör β)(antibodies, Lot:360350) ile immun boyama yapılmıştır. TGF- β 'nın fonksiyonları arasında antiproliferatif etki, proapoptotik etki ve anti-inflamatuar etki bulunmaktadır. Bilinen en güçlü immun-supresif moleküllerden birisi olan TGF- β efektör T hücrelerini ve sitostatik T hücrelerini baskılayarak, düzenleyici T-reg hücrelerini ise aktifleştirerek immun cevabı baskılamaktadır. TGF- β 'nın apoptoz indüksiyonu ise DAPK(death-associated protein kinase)'ın aktivasyonu ile gerçekleşir(49).

İmmunohistokimyasal boyama aşağıdaki yöntem uygulanarak yapılmıştır.

Poli L Lizinli lamlara (immun lamı, özel lam) kesitler alındı.

1- 75°C etüvde 40 dakika bekletildi.

2- İki farklı ksilen kabında 15'er dakika bekletildi.

3- Önce %96'lık etil alkolde, sonra %70'lik etil alkolde 10'ar dakika bekletildi.

4- Distile suya alındı. .

5- %3'lük Hidrojen Peroksitte 10 dakika bekletildi.

6-İki ayrı TBS bulunan kaptaki 5'er dakika bekletildi (2x5 dakika). TBS solusyonu :

Sodyum Klorür (NaCl).....: 45 gr

Sodyum di Hidrojen Fosfat (NaH₂PO₄).....: 17,2 gr

Potasyum di Hidrojen Fosfat (KH₂PO₄).....: 1 gr

Distile Su.....: 5 lt oranlarında PH'si 7 olacak şekilde hazırlandı. Ph ayarlanması sırasında sodyum hidroksit (NaOH) tabletleri kullanıldı.

Pap pen ile dokuların etrafı çizildi.

- 7- TBS ten çıkan lamların etrafı kurularak immun tezgahına dizildi ve Ultra V Blok damlatıldı. Ultra V Blok aşamasında 3 dakika bekletildi.
- 8-Tezgahtan lamlar alınıp şaleye dizildi ve iki ayrı TBS solüsyonu ile 5'er dakika yıkandı.
- 9- Şaleden alınan lamlardaki dokuların etrafı iyice kurulandıktan sonra Primer Antikor damlatıldı ve 60 dakika bekletildi. TGF- β primer antikoru hazırlanırken 1/50 oranında, α -SMA primer antikoru hazırlanırken 1/200 oranında TBS ile sulandırılmıştır.
- 10- Primer antikorda 60 dakika beklendikten sonra tezgahtan lamlar alındı ve şaleye dizildi. İki farklı TBS solüsyonu ile 5'er dakika yıkandı.
- 11- Sarı Linke alındı (Biotinylated) ve 20 dakika bekletildi.
- 12- Tezgahtan lamlar alınarak şaleye dizildi ve iki farklı TBS solüsyonunda 5'er dakika yıkandı.
- 13- Pembe Linke alındı (Streptavidin) ve 20 dakika bekletildi.
- 14- Tezgahtan lamlar alınarak şaleye dizildi ve iki farklı TBS solüsyonunda 5'er dakika yıkandı.
- 15- DAB Chromogen Solusyonuna alındı ve 10 dakika bekletildi.
- 16- Distile suda iyice yıkandı.
- 17- Haris hematoksilende 1 dakika zıt boya yapıldı.
- 18- Çeşme suyunda iyice yıkandı..
- 19- Önce %70'lik, sonra % 80'lik, en son olarakta % 96'lık etil alkollere 10 kez daldırılıp dokular dehidrate edildi.
- 20- Daha sonra lamlar etüvde 2 dakika tutularak kurutuldu.
- 21- Etüvden çıkarılan dokular 10 dakika ksilende bekletildi.
- 22- Ksilenden çıkarılan dokuların üzerine entellan damlatılarak lamelle kapatıldı.

3.2. Biyokimyasal Analiz

Kanlar 10cc'lik enjektörlerle alınarak jel seperatörlü pıhtı aktivatörlü biyokimya tüplerine konuldu. Pıhtılaşması için yaklaşık 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra bu kanlar 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında serumlar epandorflara alındı ve bu serumlar -80 °C'de derin dondurucuda

saklandı. Serumlar çalışılacağı gün kademeli olarak çözdürülerek Cobas c501 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) klinik kimya analiz cihazıyla ölçümler yapıldı.

Serumlarda ölçülen parametreler insülin, albumin, glukoz, trigliserid, total kolesterol, LDL, HDL, LDH, ALT ve AST dir. Bu parametrelerden trigliserid, kolesterol, LDL ve HDL enzimatik-kolorimetrik yöntem kullanılarak; ALT ve AST pridoksal fosfatsız aktivasyon yöntemi kullanılarak; LDH laktat dehidrogenaz yöntemi kullanılarak; albumin kolorimetrik yöntem kullanılarak; glukoz ise hegzokinaz yöntemi kullanılarak ölçüldü. İnsülin ise Immulite 2000 (Siemens Healthcare Diagnostic inc. Flonders NJ. 07836, USA) cihazıyla solid-faz enzim-bağlı kemilüminesan immunometrik ölçüm yöntemi ile ölçüldü.

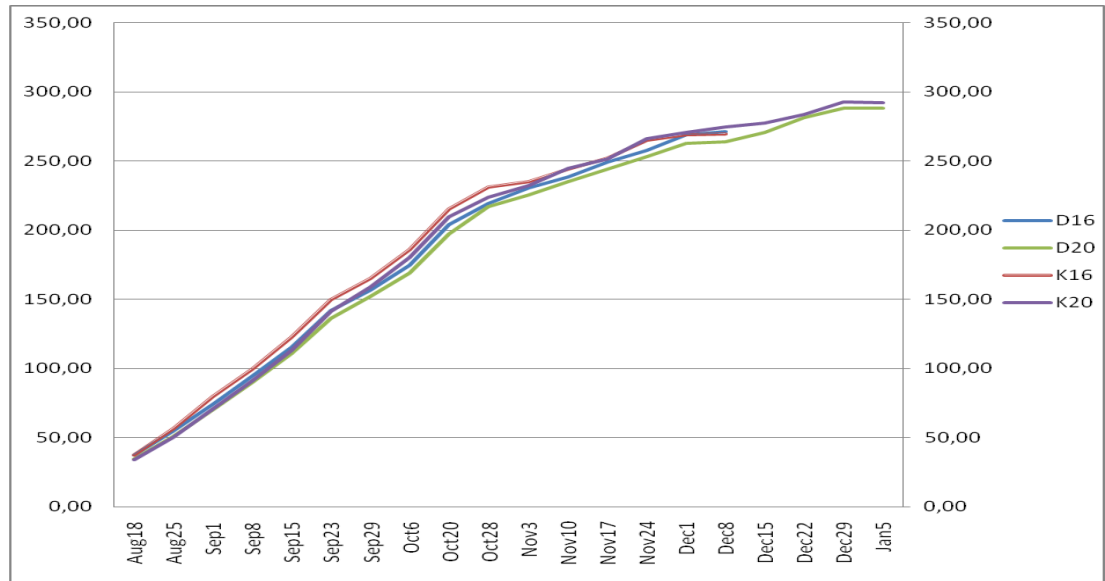
4. BULGULAR

4.1. Denek Ağırlıkları

Toplam 4 gruptan oluşan (16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu, 16 haftalık yüksek yağlı diyet grubu, 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu ve 20 haftalık yüksek yağlı diyet grubu) 30 adet deneğin ağırlıkları haftalık düzenli olarak ölçülmüştür. Elde edilen veriler Mann Whitney-U testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme esnasında 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu ve 16 haftalık yüksek yağlı diyet grupları kendi aralarında, 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu ve 20 haftalık yüksek yağlı diyet grupları da kendi aralarında değerlendirilmiştir.

Bu istatistik sonuçlarına göre 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu ile 16 haftalık yüksek yağlı diyet grupları arasında genel vücut ağırlığı değişimi bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P = 0.908 > 0.05$). Yine bu istatistik sonuçlarına göre 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu ile 20 haftalık yüksek yağlı diyet grupları arasında da genel vücut ağırlığı değişimi bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P = 0.908 > 0.05$).

Tablo 1. Grupların tarihlere göre ağırlık tablosu.



4.2. Epididimal Yağ ve Karaciğer Ağırlıkları

Elde edilen veriler Mann Whitney-U testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme esnasında 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu ve 16 haftalık yüksek yağlı diyet grupları kendi aralarında, 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu ve 20 haftalık yüksek yağlı diyet grupları da kendi aralarında değerlendirilmiştir.

Bu istatistik sonuçlarına göre hem karaciğer hem epididimal yağ ağırlığı için 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu ve 16 haftalık yüksek yağlı diyet grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p = 0.728 > 0.05$). Yine 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu ve 20 haftalık yüksek yağlı diyet grupları arasında da istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 2. Tüm grupların karaciğer ve epididimal yağ ağırlıklarının analizi (ortalama ve standart sapmalar)

Grup	KARACİĞER AĞIRLIĞI (GR)	EPİDİDİMAL YAĞ AĞIRLIĞI (GR)
K16	7,85386± 1,605751	3,1221± 1,29010
D16	8,25638± 1,710561	3,2880± 0,96614
K20	9,78286± 1,595731	3,2271± 0,94607
D20	10,06875± 2,189634	3,9088± 0,90551

4.3. Biyokimyasal Değerlendirme

Tüm grupların serum insülin, glukoz albumin, trigliserid, total kolesterol, LDL, HDL, LDH, ALT ve AST düzeyleri ölçüldü. Veriler Mann Whitney-U testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Tüm gruplarda insülin 2µu/ml den küçük bulunduğu için istatistiki inceleme dışında tutuldu.

Tablo 3. Tüm grupların biyokimyasal verilerinin ortalama ve standart sapma değerleri

	K16	D16	K20	D20
Glukoz (mg/dl)	176,00±23,248	161,00±28,127	143,00±20,321	132,00±20,601
Albumin (g/dl)	3,700±0,192	3,800±0,106	3,600±0,205	3,700±0,172
Tg (mg/dl)	39,00±8,295	49,00±18,605	59,00±22,423	79,50±28,832
Kolesterol (mg/dl)	60,00±11,743	68,00±7,566	54,00±7,631	63,50±12,487
LDL (mg/dl)	10,00±3,338	10,00±1,976	9,00±1,604	7,50±2,642
HDL (mg/dl)	49,00±9,381	53,00±5,490	43,00±7,198	49,50±9,211
LDH (U/L)	1150,00±530,769*	557,0±393,806	713,00±336,990	786,50±500,564
ALT (U/L)	70,00±20,840	49,0±13,831	69,00±15,820**	46,00±7,421
AST (U/L)	195,100±106,705	113,700±39,465	107,800±15,838	111,250±15,899

* p=0.025< 0.05, ** p=0.024< 0.05

Bu istatistik sonuçlarına göre 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu ve 16 haftalık yüksek yağlı diyet grupları arasında glukoz, albumin, trigliserid, kolesterol, LDL, HDL, ALT ve AST parametreleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Sadece LDH 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubunda yüksek yağlı diyet grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0.025< 0.05).

20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu ve 20 haftalık yüksek yağlı diyet grupları arasında glukoz, albumin, trigliserid, kolesterol, LDL, HDL, LDH ve AST parametreleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Sadece ALT yüksek karbonhidratlı grupta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0.024< 0.05).

LDH ve ALT düzeyleri arasında 16 haftalık ve 20 haftalık yüksek karbonhidrat grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Onaltı haftalık yüksek karbonhidrat diyet grubu ile 20 haftalık yüksek karbonhidrat grubu arasında sadece glukoz bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur($p=0.003$). Buna göre 16 haftalık yüksek karbonhidratla beslenen grupta ortalama glukoz düzeyi daha fazladır. Bu karşılaştırma için Bağımsız 2 Örneklem T-Testi kullanılmıştır.

Onaltı haftalık yüksek yağlı diyet grubu ile 20 haftalık yüksek yağlı diyet grubu arasında trigliserid ve LDL bakımından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmuştur. Buna göre 20 haftalık yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta ortalama trigliserid düzeyi daha fazla iken ($p=0.036$), 16 haftalık yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta ortalama LDL düzeyi daha fazladır($p=0,037$). Bu karşılaştırma için Bağımsız 2 Örneklem T-Testi kullanılmıştır.

LDH ve ALT hepatosit hasarını gösteren parametrelerdir(50,51). Bu enzimlerin yüksek karbonhidratlı diyetle daha yüksek çıkması karbonhidratların karaciğer hasarına yol açtığını göstermektedir.

4.4. Histolojik Değerlendirme

Tüm gruplardaki ratların karaciğer kesitleri hematoksilin-eozin, gomori trikrom boyaları ile boyanmıştır. Kesitler incelendiğinde tüm gruplarda portal alanda fibrozis (resim 1, 3, 5, 6) hepatositlerde steatozis (resim 16, 18) ve portal alanda ve lobuler inflamasyon (resim 2, 4, 15, 17) görülmüştür. Hepatosit çekirdekleri ve sinüzoidler normal yapıda izlenmiştir, perisinüzoidal fibrozis görülmemiştir.

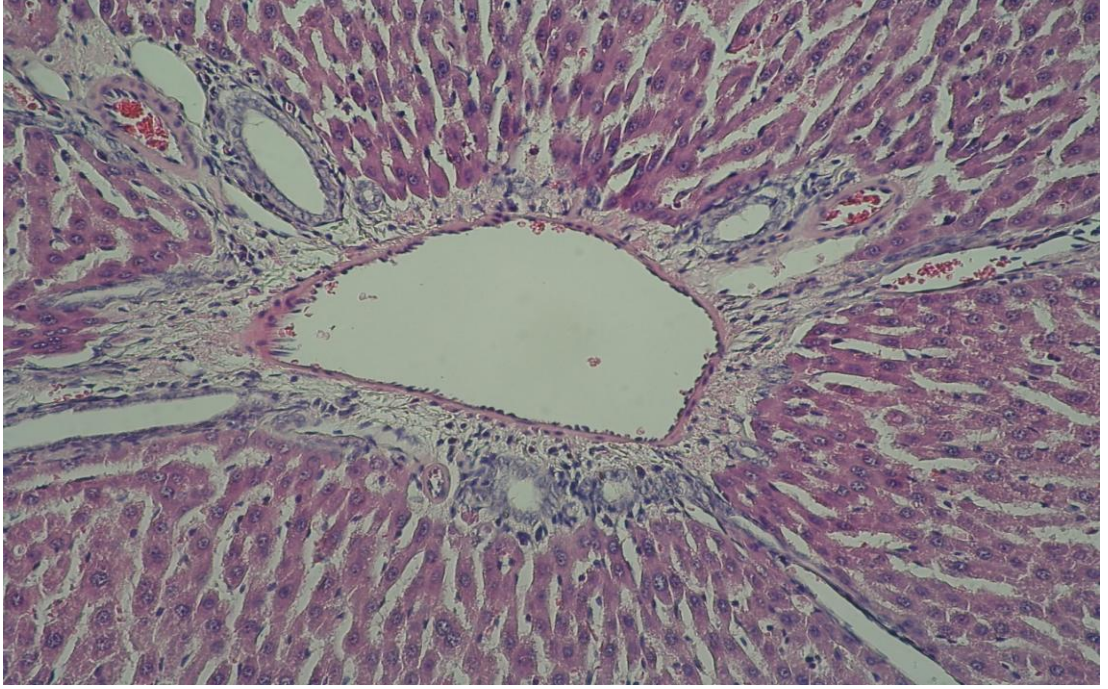
İmmunohistokimyasal olarak ta hepatik fibrozisi değerlendirmek için α -SMA ve hepatosit hasarını göstermek için TGF- β primer antikoları ile boyanmıştır. α -SMA tutulumu damar duvarlarında izlenmiştir (resim 7, 8, 11, 19, 21). TGF- β özellikle v. centralis çevresinde yoğun olmak üzere hepatositlerde tutulum göstermiştir (resim 9, 12, 20, 22).

İstatistiki inceleme için fibrozis, steatozis ve inflamasyon skorlanmıştır. **Değerlendirme:** görülmedi: 0, minimal: \pm , fokal: +, hafif derecede: ++, orta derecede: +++, yoğun(ağır) derecede: ++++ olarak yapılmıştır ve sayısal olarak 0:0, \pm :5 ve her bir + değeri ise 10 olacak şekilde skorlanma yapılmıştır (52).

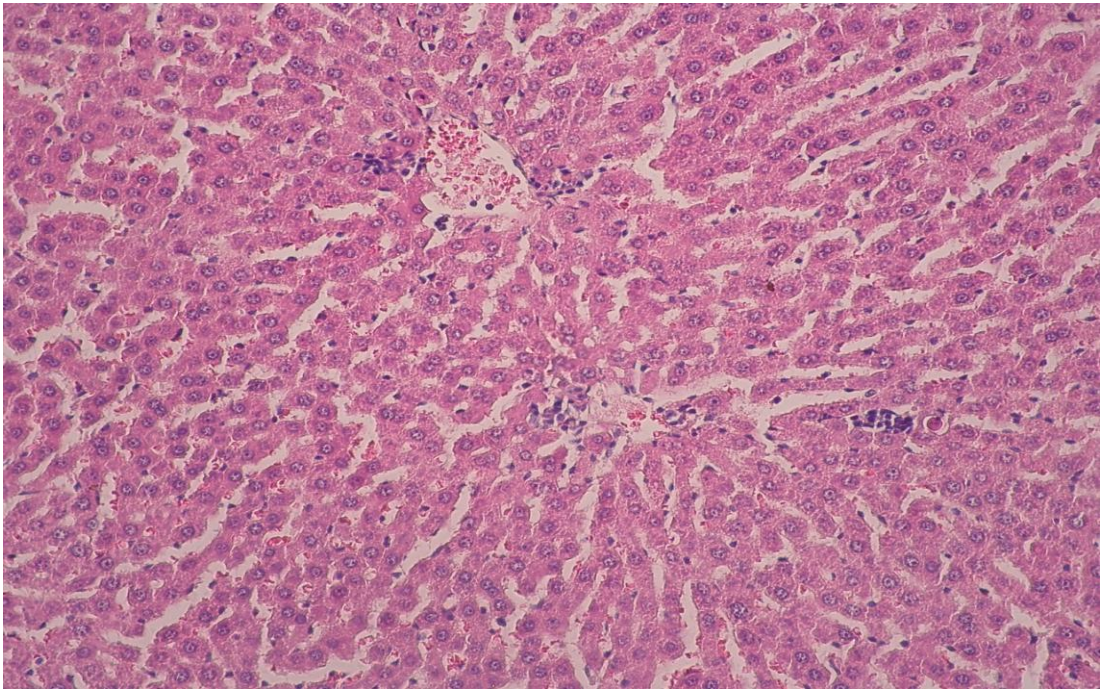
Gruplar arası istatistiksel olarak farklılık kontrolü için Mann Whitney-U testi kullanılmıştır. 16 haftalık yüksek karbonhidrat diyeti grubu 16 haftalık yüksek yağlı diyet grubuyla, 20 haftalık yüksek karbonhidrat diyeti grubu 20 haftalık yüksek yağlı diyet grubuyla, 16 haftalık yüksek yağlı diyet grubu 20 haftalık yüksek yağlı diyet grubuyla ve 16 haftalık yüksek karbonhidrat diyeti 20 haftalık yüksek karbonhidrat diyeti grubuyla karşılaştırılmış olup bu karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 4. Tüm gruplara ait istatistiksel analiz(ortalama ve standart sapmalar)

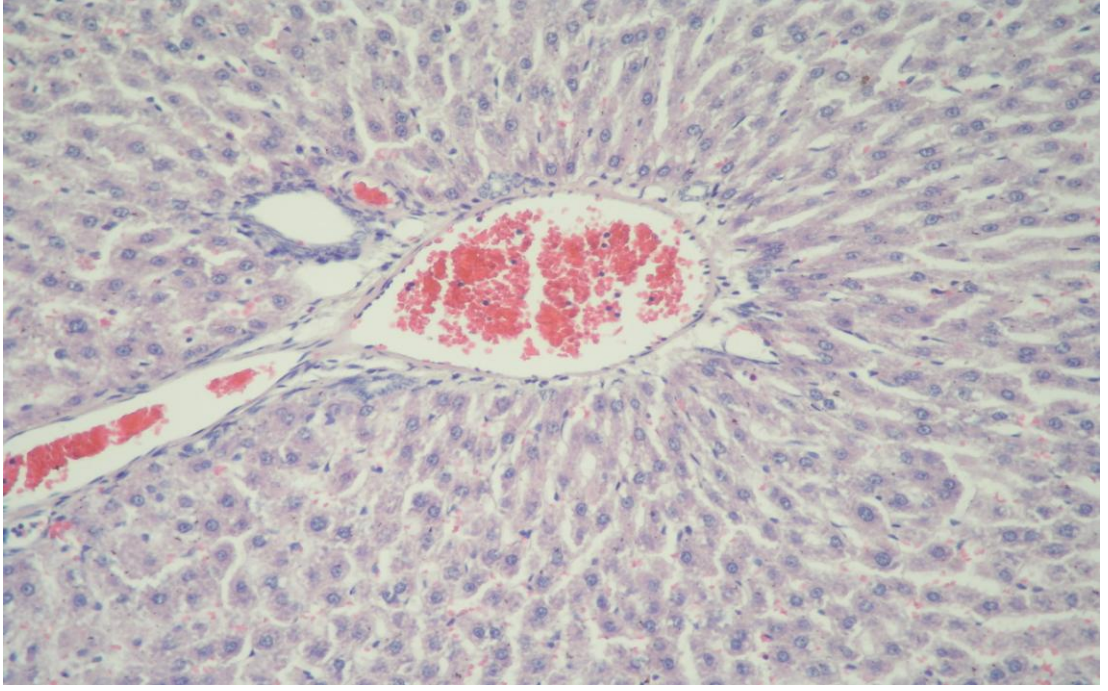
	FİBROZİS	STEATOZİS	INFLAMASYON
D16	32,5 \pm 5,34	17,5 \pm 8,86	25 \pm 13,09
K16	35 \pm 6,45	15,71 \pm 7,86	25,71 \pm 13,97
D20	25 \pm 9,25	25 \pm 14,14	19,38 \pm 13,74
K20	32,86 \pm 7,55	17,14 \pm 12,53	16,43 \pm 11,80



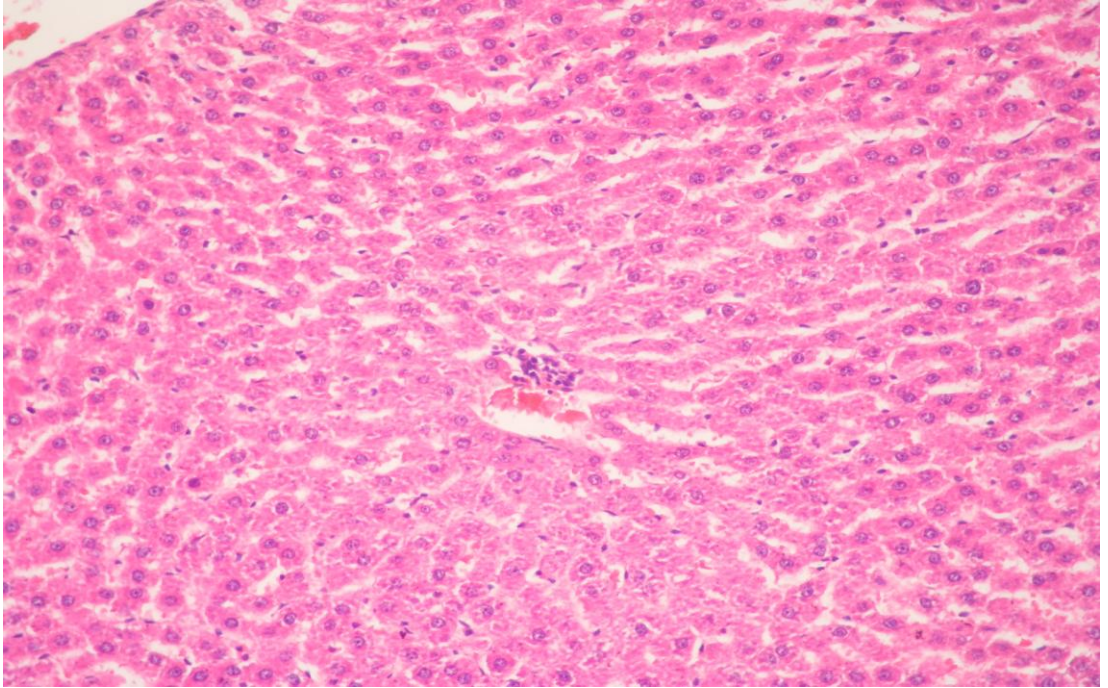
Resim 1: 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu HE X200. Portal alanda fibrozis görülüyor.



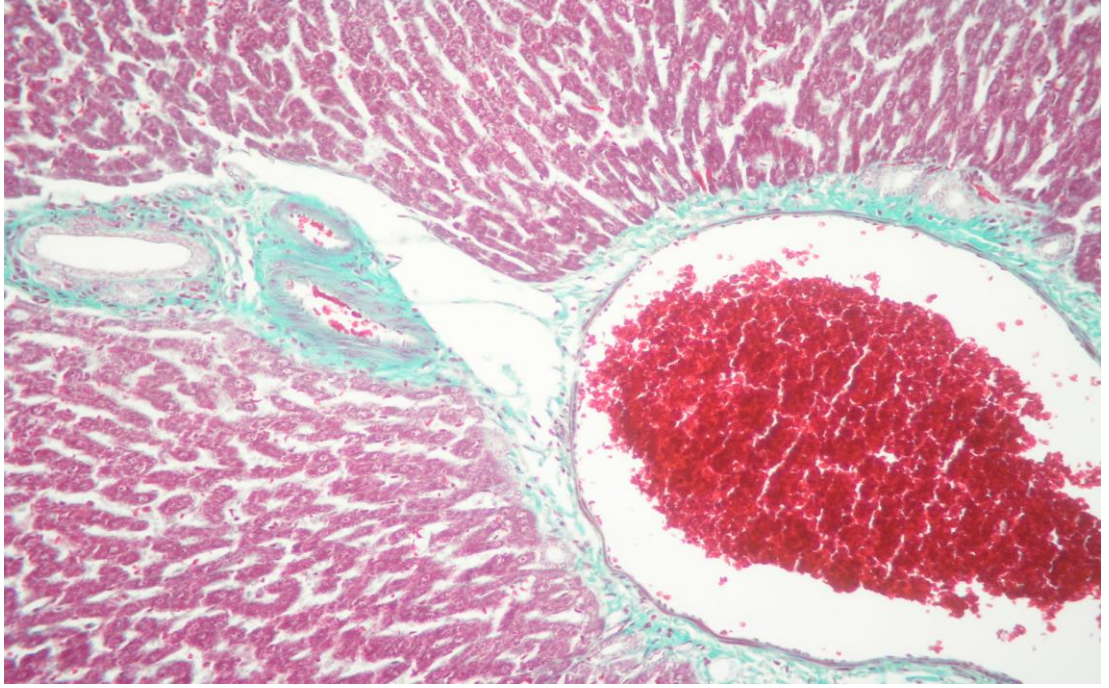
Resim 2: 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu HE X200. V.centralis çevresinde ve intralobuler inflamasyon görülüyor.



Resim 3: 16 haftalık yüksek yağlı diyet grubu HE X200. Portal alanda bağ dokusu daha az ve hepatositler normal görülüyor.



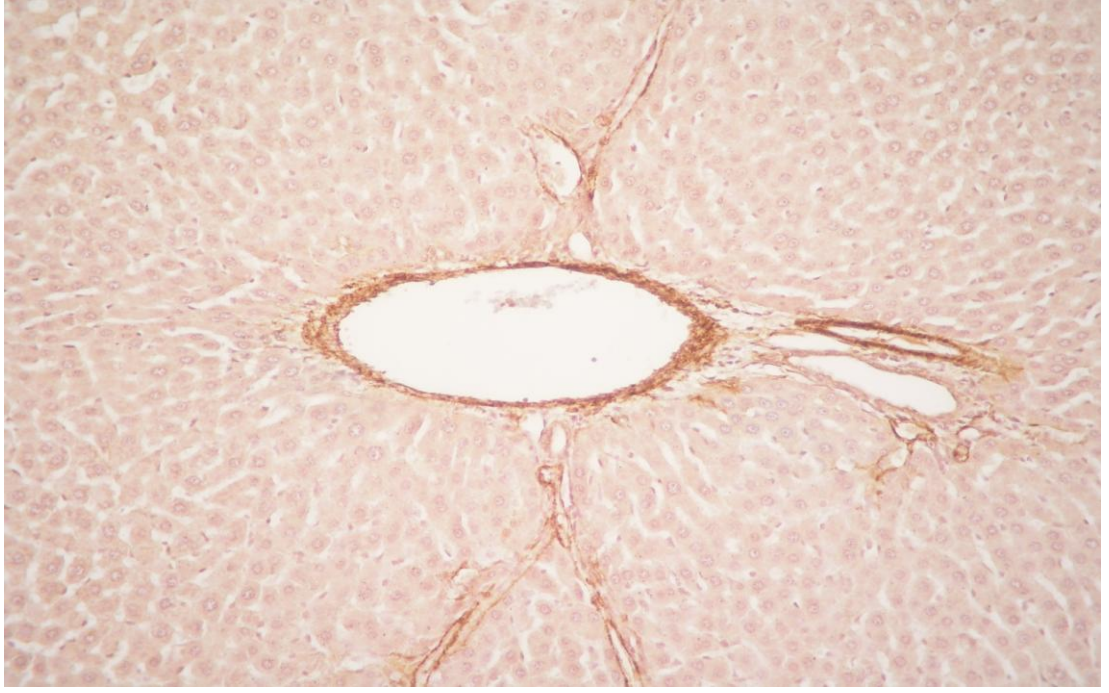
Resim 4: 16 haftalık yüksek yağlı diyet grubu HE X200. İnflamasyon görülüyor.



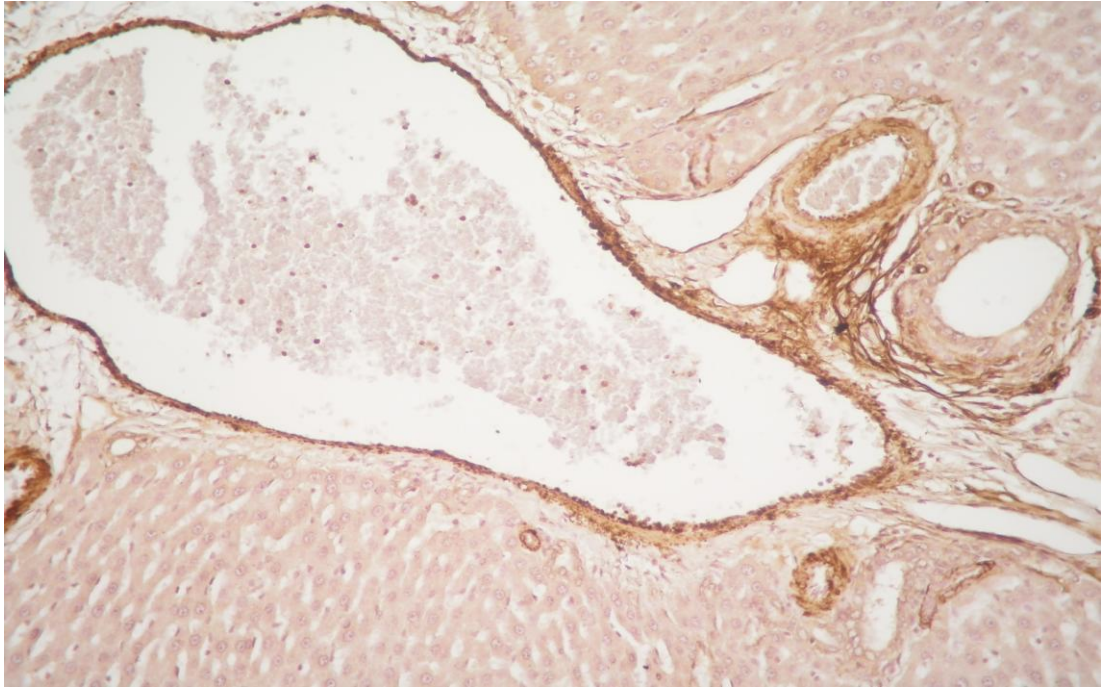
Resim 5: 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu gomori-trikrom X200. Fibrozis görülüyor.



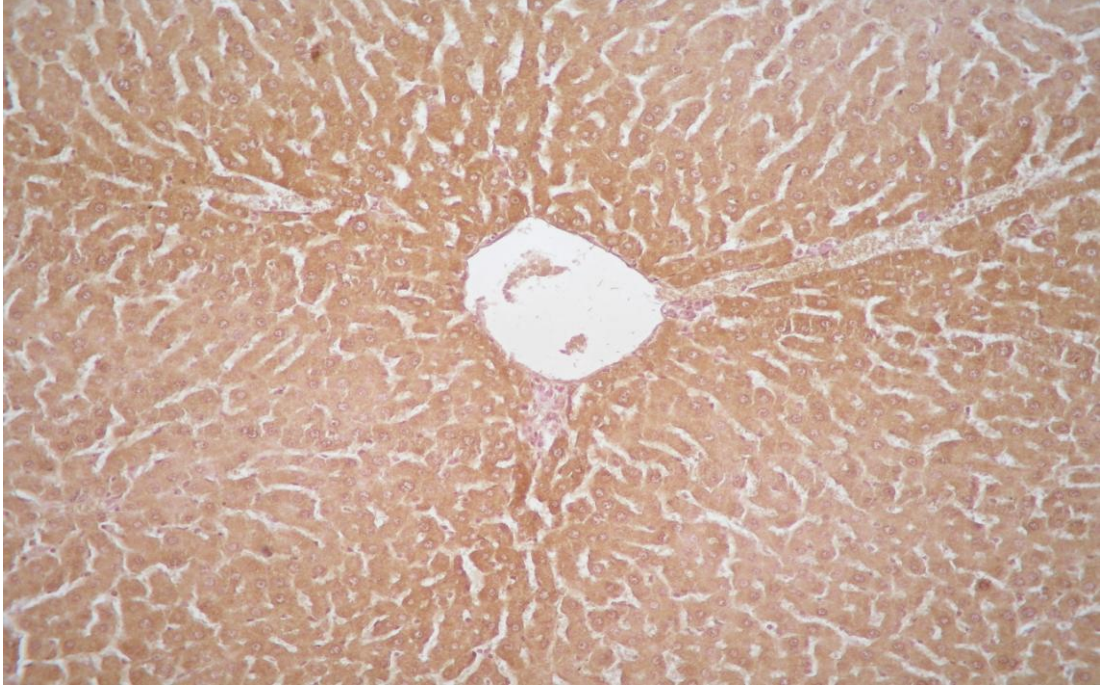
Resim 6: 16 haftalık yüksek yağlı diyet grubu gomori-trikrom X200. Portal alanda kollagen lif artışı görülüyor.



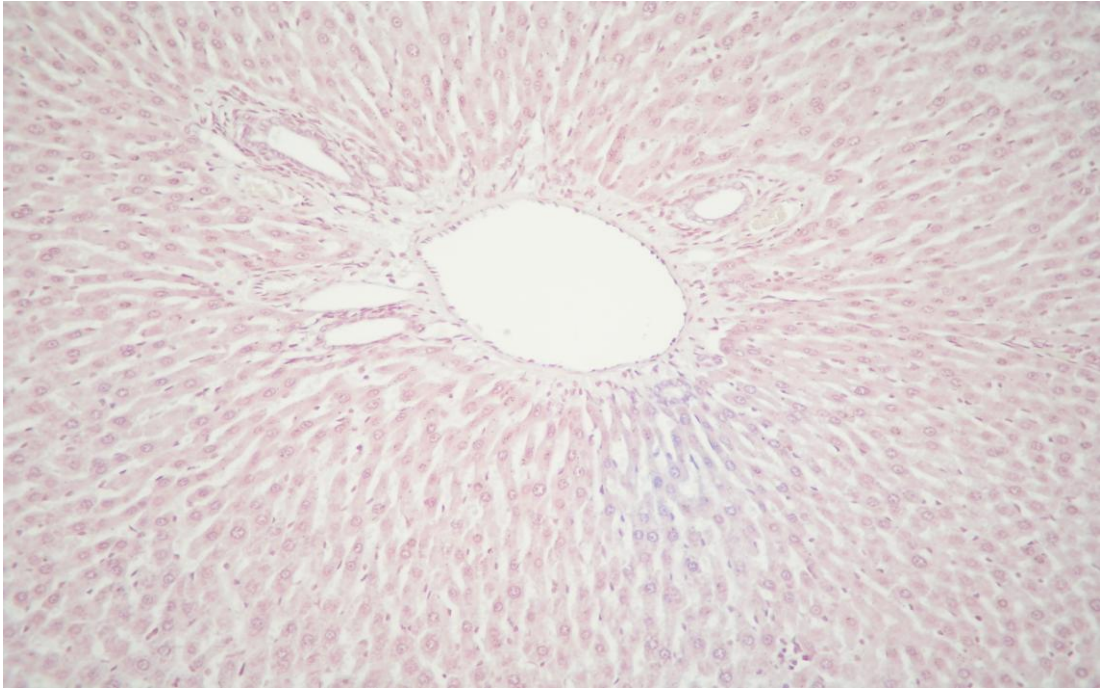
Resim 7: 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu α -SMA X200. Damar duvarlarında tutulum izleniyor.



Resim 8: 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu α -SMA X200. Damar duvarlarında tutulum izleniyor.



Resim 9: 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu TGF- β X200. V.centralis çevresinde yoğun olmak üzere hepatositlerde tutulum izleniyor.



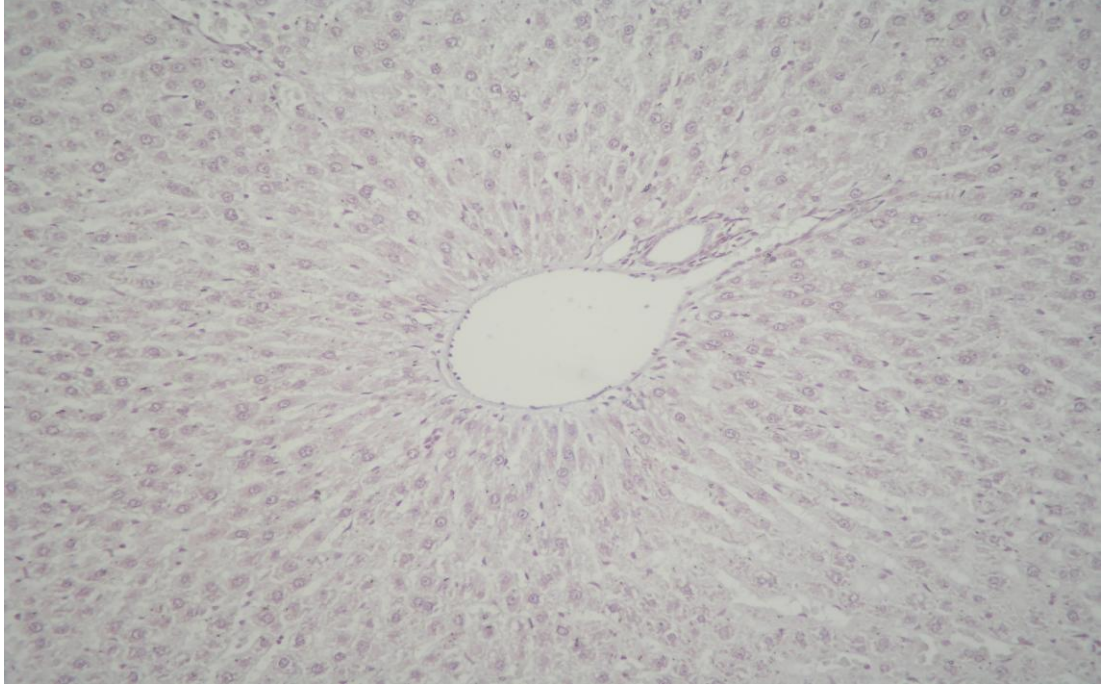
Resim 10: 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu negatif kontrol X200.



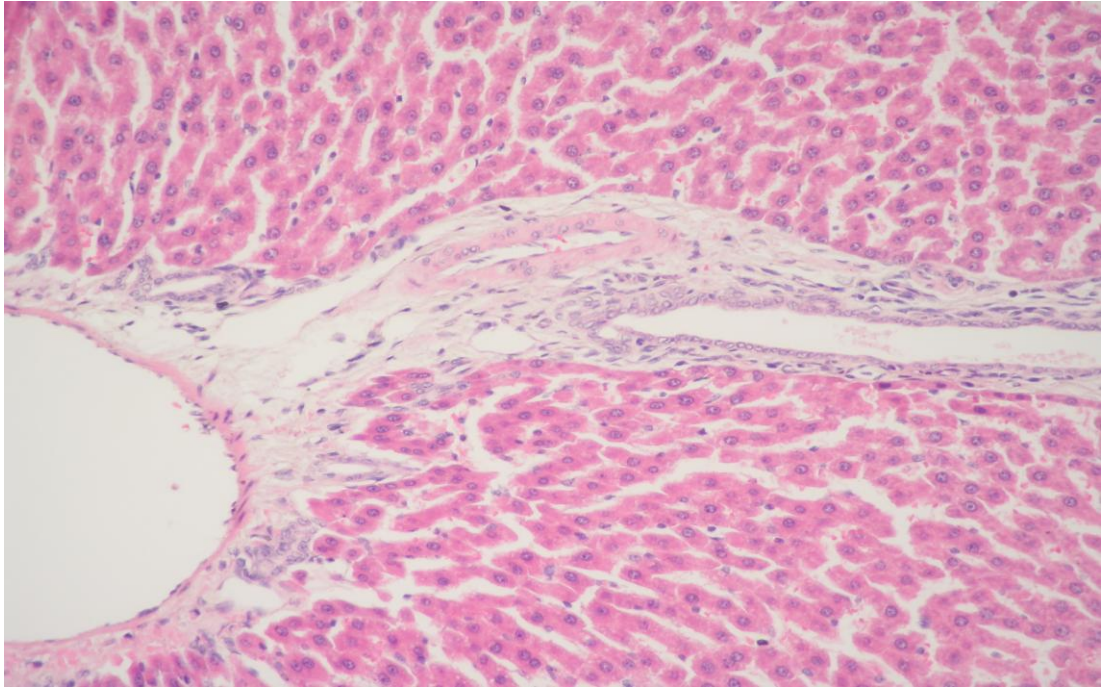
Resim 11: 16 haftalık yüksek yağlı diyet grubu α -SMA X200. Damar duvarlarında tutulum izleniyor.



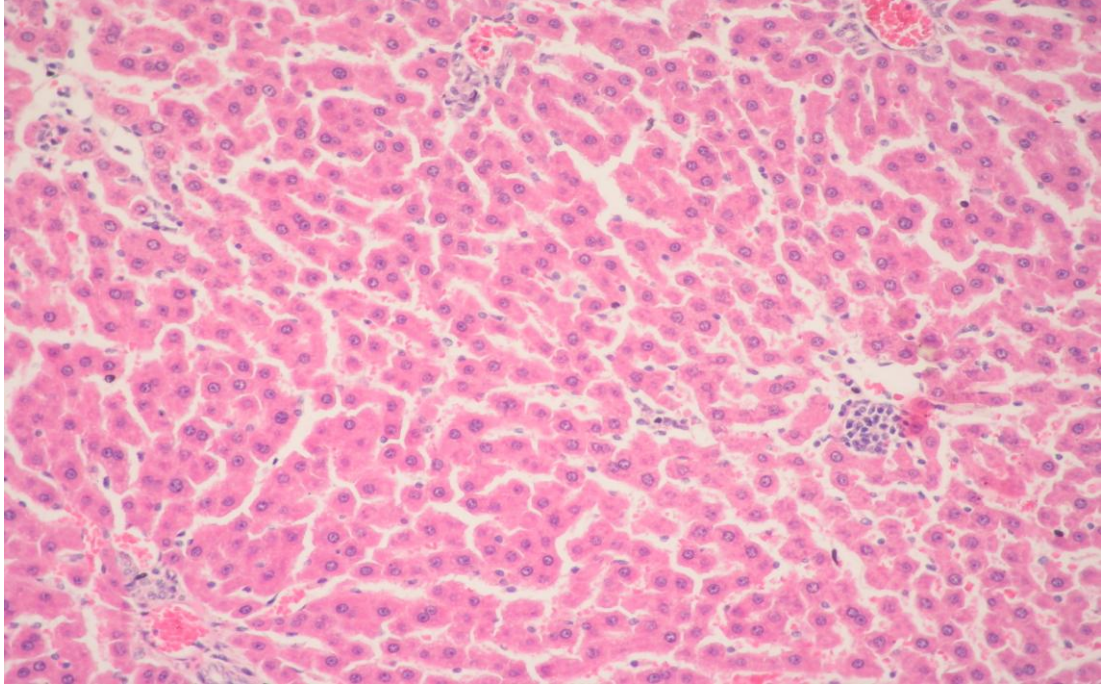
Resim 12: 16 haftalık yüksek yağlı diyet grubu TGF- β X200. V.centralis çevresinde yoğunlaşan tutulum görülüyor.



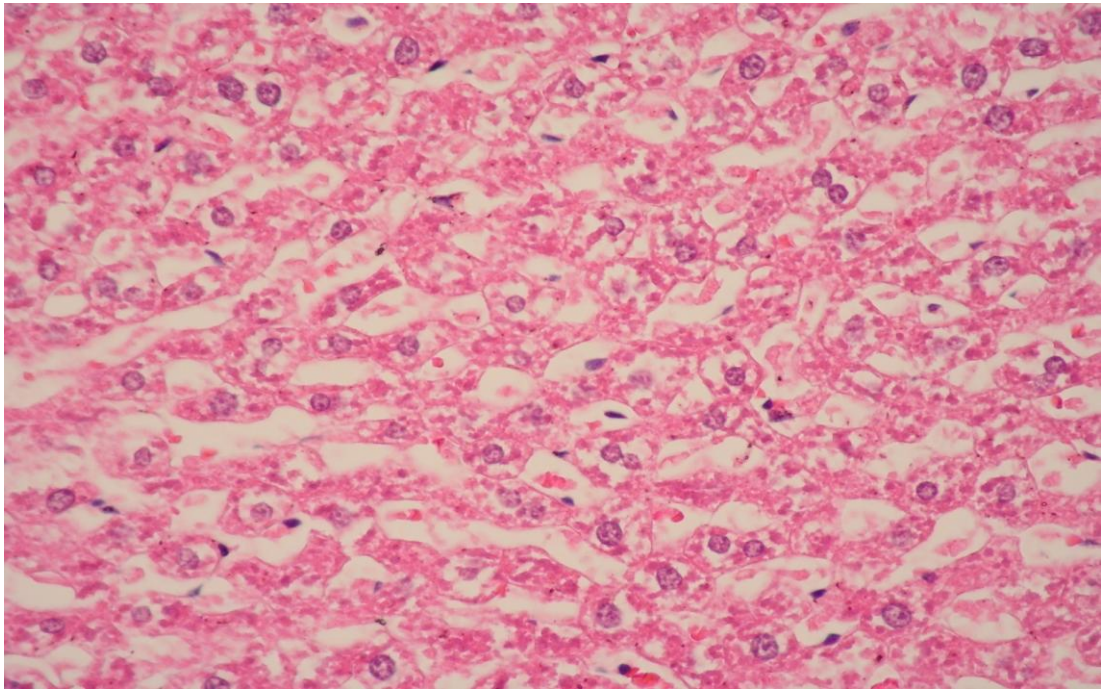
Resim 13: 16 haftalık yüksek yağlı diyet grubu negatif kontrol X200.



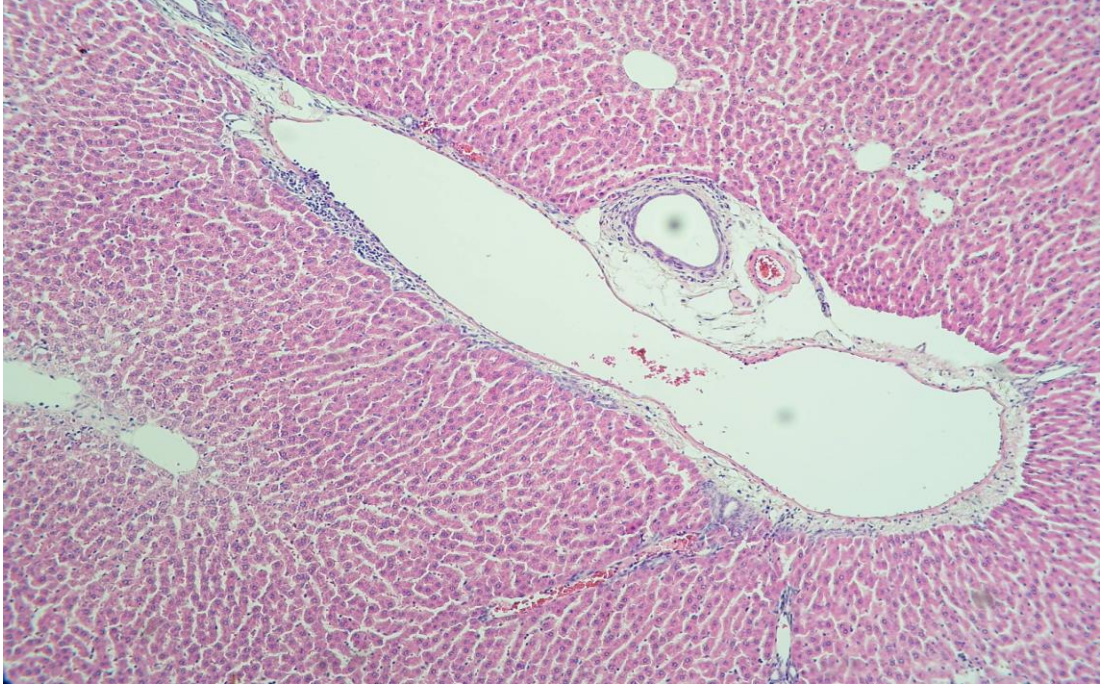
Resim 14: 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu HE X200. Portal alanda fibrozis görülüyor.



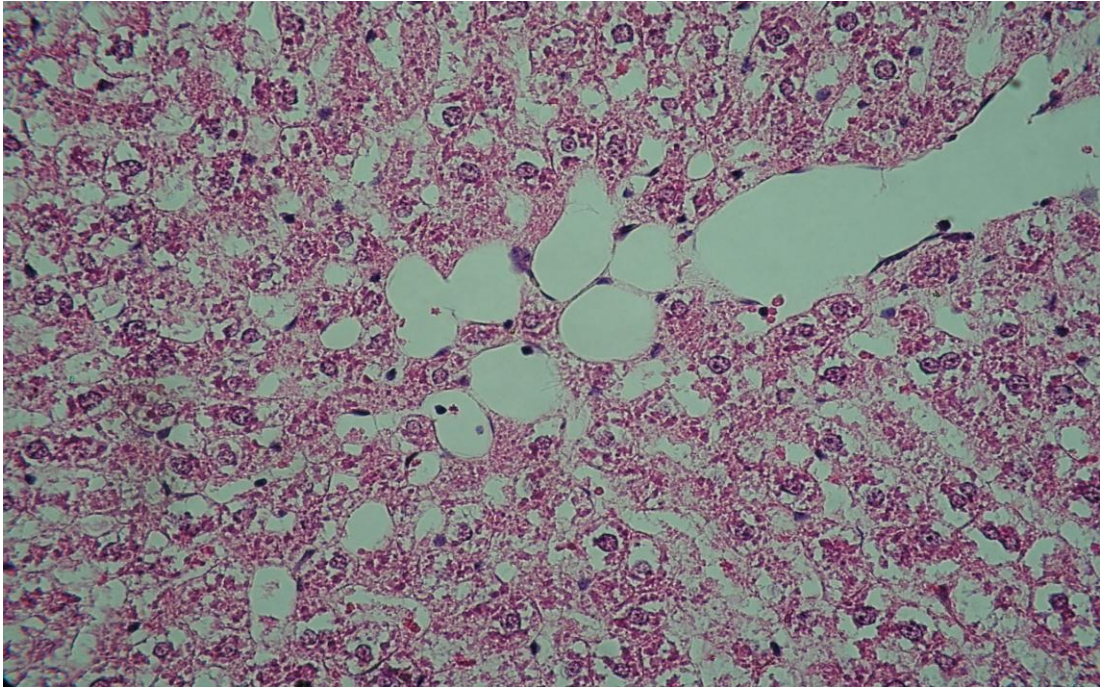
Resim 15: 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu HE X200. İnflamasyon odakları izleniyor.



Resim 16: 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu HE X400. Hepatositlerde steatozis izleniyor.



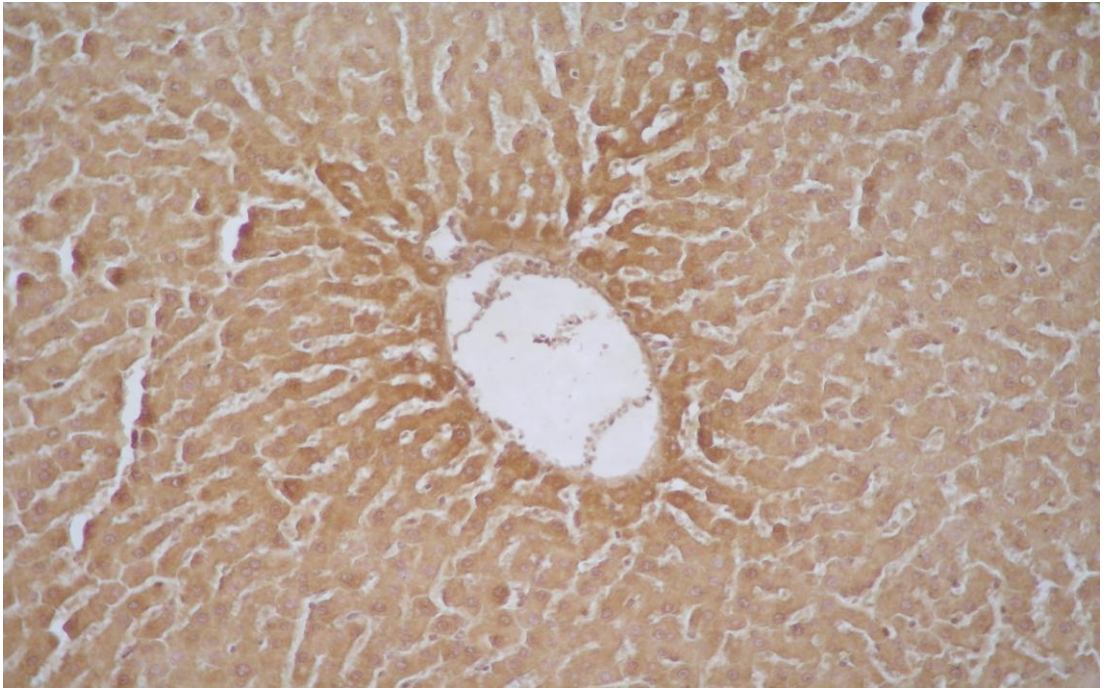
Resim 17: 20 haftalık yüksek yağlı diyet grubu HE X100. Portal alanda fibrozis ve inflamasyon görülüyor.



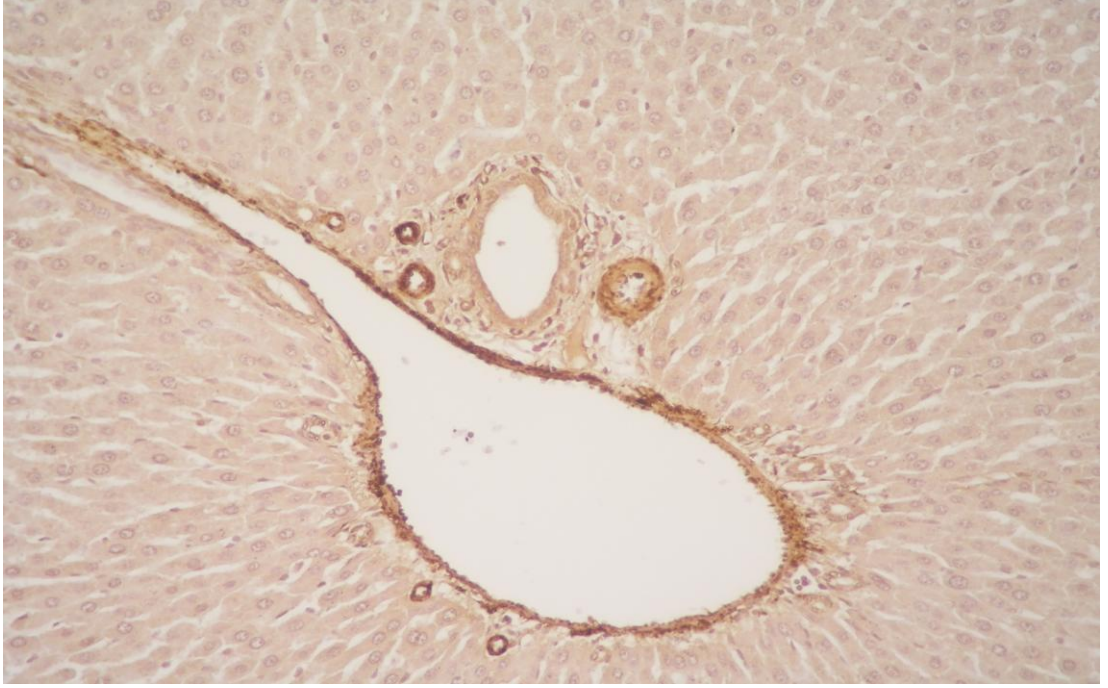
Resim 18: 20 haftalık yüksek yağlı diyet grubu HE X400. Steatozis ve sinüzoidlerde dilatasyon görülüyor.



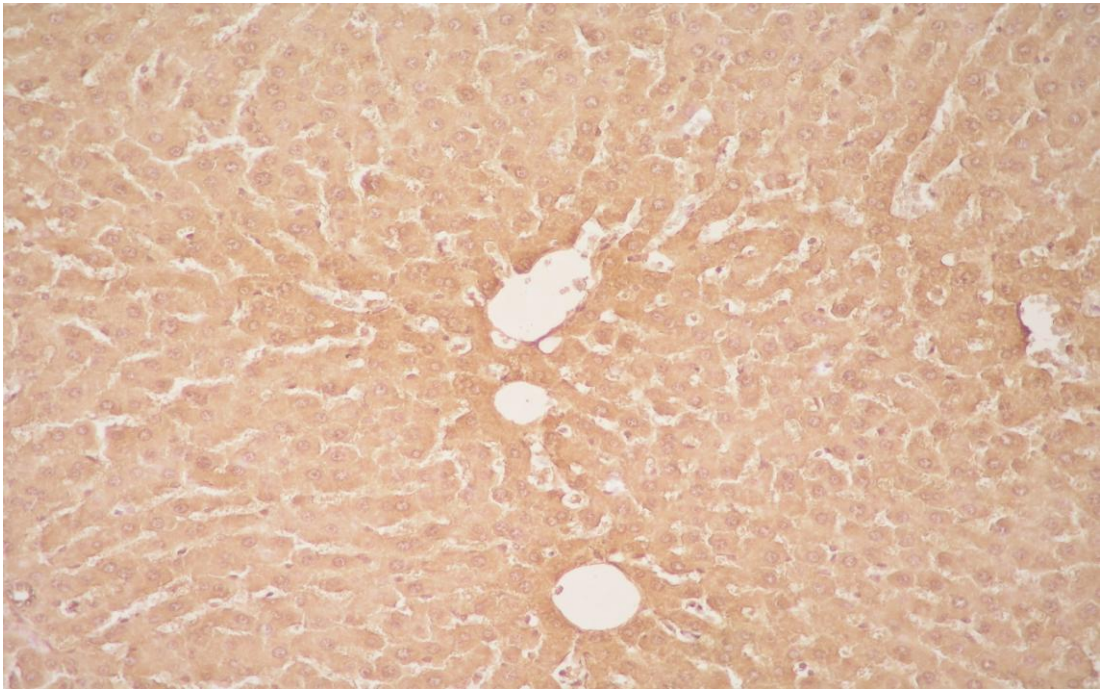
Resim 19: 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu α -SMA X200. Damar duvarlarında tutulum izleniyor.



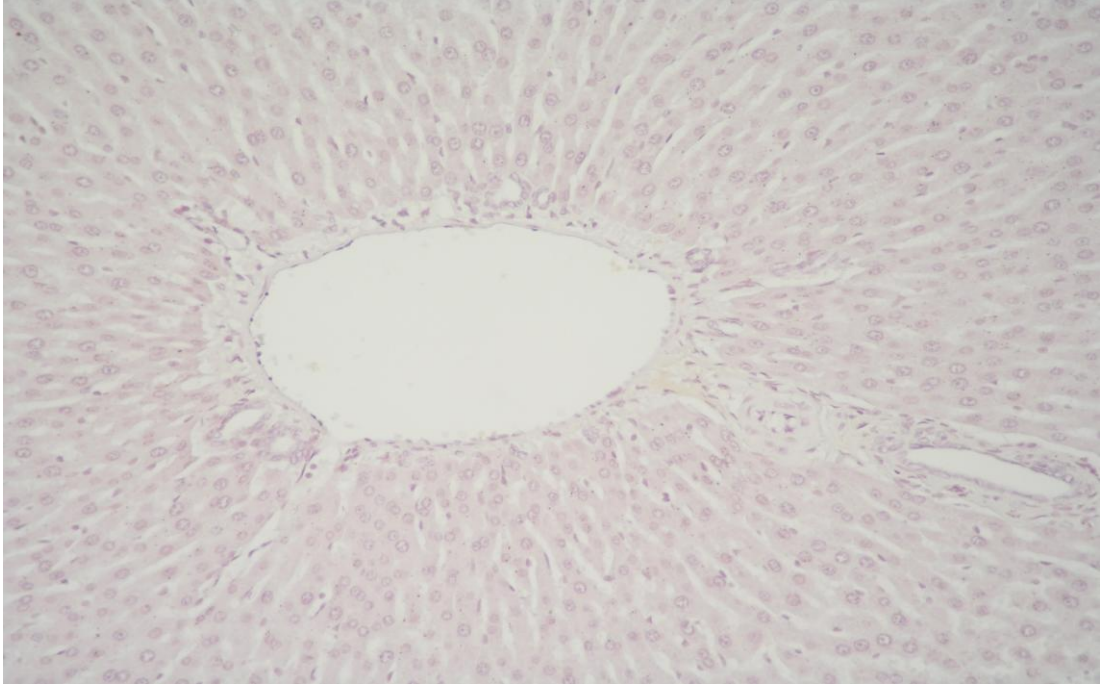
Resim 20: 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubu TGF- β X200. V.centralis çevresinde yoğun olmak üzere tutulum görülüyor.



Resim 21: 20 haftalık yüksek yağlı diyet grubu α -SMA X200. Damar duvarlarında tutulum izleniyor.



Resim 22: 20 haftalık yüksek yağlı diyet grubu TGF- β X200. Hepatositlerde tutulum görülüyor.



Resim 23: 20 haftalık yüksek yağlı diyet grubu negatif kontrol X200.

5. TARTIŞMA

Araştırmamızda yüksek yağlı diyetin kilo alımındaki rolünü ve karaciğer üzerine etkilerini incelemeyi planladık.

Bu amaçla; %60 yağ (1/3 kanola, 1/3 margarin ve 1/3 ayçiçek yağı) içeren yüksek yağlı diyet içeriğini yüksek karbonhidrat içeren standart rat diyeti ile karşılaştırmak üzere 16 haftalık ve 20 haftalık gruplar oluşturduk. Deneyin sonunda vücut ağırlıkları, karaciğer ağırlığı ve epididimal yağ ağırlığı ölçüldü. Kardiak kanda, glikoz, albumin, insulin, trigliserid, total kolesterol, HDL, LDL, VLDL, LDH, ALT ve AST bakıldı. Karaciğer dokularında histolojik inceleme yapıldı.

Vücut ağırlığı, KC ağırlığı ve epididimal yağ ağırlığı karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık görülmezken 16 haftalık yüksek karbonhidrat grubunda LDH, 20 Haftalık yüksek karbonhidrat grubunda ALT anlamlı olarak yüksek bulundu. Histolojik incelemede ise tüm guruplarda portal alanda fibrozis, inflamasyon, steatozis bulguları görülmesine rağmen istatistiki olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi. İmmunohistokimyasal incelemede α -SMA ve TGF- β tutulumu benzer bulundu.

Oysa Zeng-Jie Xu ve arkadaşları 2009 yılında ratlarda yaptıkları bir araştırmada, %52'sini karbonhidratlar, %30'unu yağlar ve % 8'ini proteinden yüksek yağlı diyetle, %67 karbonhidrat, %10 yağ ve %23 protein içeren kontrol diyetinin etkilerini incelemişler ve 16. haftasından itibaren yüksek yağlı diyetle (HFD) ile beslenen ratların gerek vücut ağırlığı gerek epididimal yağ ağırlığı gerekse karaciğer indeksinde(Liver indeks(LI):karaciğer ağırlığı/vücut ağırlığı X%100) kontrol grubu ratlarına göre belirgin bir biçimde artış görülmeye başlandığını, serum ALT, serum serbest yağ asidi (FFA) ve serum TNF- α konsantrasyonları HFD ile beslenen ratlarda daha yüksek bulunmakla beraber, iki grup arasında serum trigliserid (tg) düzeylerinde anlamlı bir farklılık bulunmadığını göstermişlerdir. Normal diyetle beslenen ratların karaciğerlerinde hem mikroskopik hemde makroskopik bir anormallik gözlenmemiş olup HFD diyeti ile beslenen ratlarda ise özellikle 24-48.

haftalar arasında şiddetli steatozis, 16. haftadan itibaren hepatik fibrozis bulguları görülmeye başlanmıştır. İmmunohistokimyasal incelemede 12. haftadan itibaren HFD ile beslenen ratların karaciğer kesitlerinde a-SMA ve TGF- β 'nın arttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışma yazarlar tarafından deneysel NASH modeli olarak sunulmuştur (25).

Yine benzer şekilde Altunkaynak tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada da %30 yağ, %50-52 karbonhidrat, %18-20 protein ve %1-2 vitamin ve mineralden oluşan(210 kcal/100gr/gün) içeren yüksek yağlı diyet ile %7-10 yağ, %68-70 karbonhidrat, %18-20 protein ve %1-2 vitamin ve mineralden oluşan(210 kcal/100gr/gün) standart diyet kontrol gurubu karşılaştırılmış ve yüksek yağlı diyet gruplarında; sinüzoidler, central venler ve portal ven dallarında dilatasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu ve fibrozis gözlenmiştir (24).

Yine yapılan bazı çalışmalarda ise bizim bulduğumuz verilerin tam tersi bir şekilde yüksek yağlı diyetin hiperglisemiye ve insülin rezistansına yol açtığı, karaciğer üzerine olumsuz etki yaptığı gösterilmiştir (53-60).

Kucera ve arkadaşlarının 2011 yılında yapmış olduğu çalışmada da karbonhidrattan zengin standart diyet ile orta yağlı diyet grubu(%35 yağ) ve yüksek yağlı diyet grubu(%71 yağ) karşılaştırılmış olup gruplar arasında biyokimyasal olarak sadece yağlı diyet gruplarında triaçilgliserol düşüklüğü bulunmakla birlikte orta yağlı diyet ve yüksek yağlı diyet gruplarında standart diyetten farklı olarak NASH belirtileri olmadan sadece basit steatozis görülmüştür (61).

Bu çalışmalarda yüksek yağlı diyetin kompozisyonu verilmemiştir. Kucera ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma daha yüksek yağ oranı içermesine rağmen sadece basit steatozis görülmesi yağ içeriğinin karaciğere etki açısından önemli olduğunu göstermektedir.

Oysa 2008 yılında Omagari ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yüksek yağlı diyet ile karbonhidrat diyeti karşılaştırılmıştır. Yüksek yağlı diyetin yağ içeriğini %39 soya yağı ve %6 domuz yağı oluştururken düşük yağlı standart diyetin yağ içeriğini %6 soya yağı ve %4 domuz yağı oluşturmuştur. Araştırmanın sonunda gruplar arasında vücut ağırlığı, epididimal yağ ağırlıkları, serum insülin, glukoz, total kolesterol, trigliserid, leptin, adiponektin, ALT ve AST seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Histopatolojik olarak NASH Klinik Araştırma Ağı skorlama sistemine göre üç grup arasında steatoz sıklığı, lobüler inflamasyon, hepatosit balonlaşması ve fibroziste anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Bu çalışmada yüksek yağlı diyet ile kontrol diyeti ile beslenenler arasında gerek biyokimyasal gerekse histopatolojik olarak anlamlı bir farklılığın bulunmaması bize yüksek yağlı diyet içeriğindeki gerek soya yağında (62) gerekse domuz yağında (63) bulunan oleik asitin koruyucu etkisi olabileceğini düşündürmektedir (27). Yapılan başka bir çalışmada soya yağının lipogenezisi ve karaciğer yağ deposunu azalttığı gösterilmiştir (28).

Torres ve arkadaşları da 2010 yılında gebe kadınlar üzerinde omega-6 ve omega-9 yağ asitlerinin fetusa olan etkilerini araştırmak üzere bir çalışma yapmışlardır. Omega-6 dan zengin diyetle beslenen annelerde serum lipid düzeyi ve total kolesterol düzeyi, bebeklerinde ise hepatik trigliserid önemli derecede daha yüksek bulunmuştur. Omega-9 diyet grubu ile karşılaştırıldığında omega-6 ile beslenen annelerin bebeklerinde HDL konsantrasyonu önemli derecede düşük olmakla birlikte lökosit infiltrasyonu omega-6 ile beslenen annelerin bebeklerinde daha belirgin olarak görülmüştür. Omega-9 ile beslenen annelerin bebeklerinde diğer gruplara göre LDL düzeyi önemli derecede daha yüksek ve trigliserid konsantrasyonu daha düşük bulunmuştur. Omega-6 ve omega-9 gruplarında standart diyet grubuna göre yenidoğanların kanlarında total kolesterol seviyesi önemli derecede yüksek bulunmuştur.

Standart diyete maruz kalan annelerin bebeklerinde karaciğer hücrelerinde mikroveziküler steatozis görülürken Omega-6'dan zengin diyetle beslenen annelerin bebeklerinin karaciğer hücrelerinde hem mikroveziküler hem de makroveziküler

steatozis görülmüştür. Omega-9'dan zengin diyetle beslenen annelerin bebeklerinde ise karaciğer hücrelerinin sitoplazmasında lipid damlacıklarının azaldığı saptanmıştır (29).

Yüksek yağlı diyetle ilgili yapılan çalışmaların bazılarında ise yüksek yağlı diyet içeriği olarak mısır yağı kullanılmış ve karaciğerde steatozis, inflamasyon vb içeren olumsuz etkiler görülmüştür (30,31). Mısır yağı %24.1 oleik asit, %61.9 linoleik asit, %11 palmitik asit, %2 stearik asit ve %0.07 oranında linolenik asit içermektedir (64) ve linoleik asit(omega-6) inflamatuvar, trombotik, mitojenik ve hiperaljenzik etki göstermektedir.(38) Bu olumsuz etkiler Omega 6 yağ asidi oranının yüksekliğine bağlı olabilir.

Domuz yağı ve balık yağından zengin diyetle yapılan bir çalışmada da omega-3 ten zengin balık yağının daha koruyucu olduğu bildirilmiştir (32).

Yine yüksek trans yağlı diyetle yapılan bir çalışmada ALT, insülin direnci ve IL-1 β yüksek bulunmuştur (33).

Oleik asitin damar ve böbrek gibi diğer organlar üzerinde de koruyucu etkinliği olduğu gösterilmiştir(39-43;48). Bazı çalışmalarda oleik asitin kanserden koruyucu olduğu gösterilmişken(44,45,46) bazı çalışmalarda da oleik asitin antimikrobial aktiviteyi arttırdığı gösterilmiştir (47). Omega-9 yağ asitleri en çok zeytinyağı ve kanola yağında bulunmaktadır. Kanola yağı yaklaşık %9-11 oranında omega-3(linoleik asit) ve %56 oranında da omega-9 yağ asidi(oleik asit) içermektedir (48).

Parthasarathy ve arkadaşlarının 1990 yılında tavşanlar üzerinde yapmış olduğu çalışmada bir grup deney hayvanına yeni geliştirilmiş %80 oleik asit ve %8 linoleik asit içeren varyant ayçiçeği yağı verilirken, diğer gruptaki deney hayvanına %20 oleik asit ve %67 linoleik asit içeren konvansiyonel ayçiçeği yağı içeren diyet verilmiştir. Varyant ayçiçeği yağı ile beslenen tavşanların kanlarından izole edilen LDL'nin yüksek oranda oleik asit ve düşük oranda linoleik asit içerdiği görülmüş ve

oleik asitten zengin LDL'nin oksidatif modifikasyona karşı oldukça dirençli olduğu bulunmuştur. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre oleik asit açısından zengin diyetin aterosklerozisin gelişiminin yavaşlatabileceği ileri sürülmüştür (65).

Berry ve arkadaşlarının 1991 yılında yaptıkları ve 12 haftalık 2 periyod boyunca toplam 24 hafta süren çalışmada tekli doymamış yağ asidi (MUFA) ile çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) diyetleri (%50 karbonhidrat, %32 yağ, %18 protein) uygulanmıştır. Total plazma kolesterolü (TC) MUFA ve PUFA diyetlerinde sırasıyla %10 ve %16 oranında azalma göstermiştir. Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü (LDL-C) her iki diyet grubunda periyodlar arasında farklılık olmakla birlikte düşüş göstermiştir. Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolünün (HDL-C) konsantrasyonu her iki diyet grubunda önemli bir değişim göstermemiştir. PUFA diyetinde lipid peroksidasyonuna yönelik eğilim önemli derecede daha yüksek bulunmuş. MUFA'da ise LDL'nin oksidatif strese duyarlılığı daha düşük bulunmuştur (66).

Riveros ve arkadaşlarının 2010 yılında yapmış olduğu çalışmada yüksek oleik asitin lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etkisi gösterilmiştir.(67). Nakbi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da oleik asitin oksidatif stresi azalttığı görülmüştür (68). Bu bulgular bizim çalışmamızda yüksek yağlı diyetin karaciğeri nasıl koruduğuna açıklık getirmektedir.

Hepatosellüler steatozisin deneysel modelini oluşturmak üzere yapılan bir çalışmada; serbest yağ asitleri Oleat/palmitat oranı 0/3 olduğunda steatozis en yüksek düzeyde görülürken oleat oranı arttıkça steatozis bulguları azalmıştır (34). Yine yapılan bir hüce kültürü çalışmasında palmitik asitin insülin duyarlılığını düşürdüğü ve apoptozisi artırdığı görülmüş, oleik asitli kombinasyonlarda insülin direnci ve apoptozis daha düşük bulunmuştur. Oleik asitin hepatosit hücre kültürlerinde palmitik aside göre daha çok steatojenik fakat daha az apoptotik olduğu gösterilmiştir (35).

Hussein ve arkadaşlarının 2006 yılında yayınlanmış çalışmasında tekli doymamış yağ asitleri, çoklu doymamış yağ asitleri ve doymuş yağ asitlerinin deneysel non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı oluşturulmuş rat karaciğerinde oksidatif stres ve hepatik lipid üzerine etkileri araştırılmıştır. Tekli doymamış yağ asitleri kaynağı olarak zeytinyağı, çoklu doymamış yağ asitleri kaynağı olarak balık yağı ve doymuş yağ asitleri kaynağı olarak ta tereyağı kullanılmıştır. Zeytinyağı kullanılan grupta karaciğerde trigliserid birikiminin azaldığı tespit edilmiştir (36).

Omega-9'un LDL üzerindeki oksidatif stresi azaltmasına bağlı doku harabiyetini azalttığı gösterilmiştir. Bir tek Ricchi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada oleik asitin apopitozise karşı koruyucu olduğu ancak palmitik asite göre daha steatojenik olduğu bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da kontrol grubu ile yüksek yağlı diyet grubu arasında anlamlı bir fark bulamamızın nedenlerinden birisi omega-9 yağ asitinin koruyucu özelliği olabilir.

Romestaing ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada ise ratlara standart diyet, Hindistan cevizi yağından zengin diyet, tereyağından zengin diyet ve metiyonin-kolin eksik diyet olmak üzere 4 farklı diyet türü uygulanmış, Çalışma sonunda yüksek doymuş yağlı diyetin çevresel yağ depolanmasını ve kahverengi yağ dokusunun termogenezisini arttırdığını ancak hepatik steatozis ve fibrozisi indüklemediği tesbit edilmiştir (37). Bunun nedeni standart diyete oranla Hindistan cevizi ve tereyağından zengin diyetle oleik asit miktarının daha yüksek oranda bulunması olabilir.

Bazı çalışmalarda yüksek karbonhidratlı diyetin hepatik yağ asidi sentezini arttırdığı belirtilirken (69) bazı çalışmalarda da bunun tam tersi olarak yüksek yağlı diyetin hepatik lipid düzeyini arttırdığı bildirilmiştir (24,25).

Berke ve arkadaşlarının 1983 yılında yapmış oldukları çalışmada obez ve obez olmayan ratlara ilk 6 hafta yüksek yağlı diyet, daha sonra bu ratların bazıları 10. haftaya kadar yüksek karbonhidratlı diyetle beslenmişlerdir. Karbonhidratla beslenmenin erken dönemdeki yağ diyetinden bağımsız olarak hepatik yağ asidi

sentezini arttırdığı, fakat obez ratların obez olmayan ratlara göre karbonhidrat diyetine daha duyarlı olduğu görülmüştür (69). Bu çalışmada karbonhidratla beslenmenin hepatik yağ asidi sentezini arttırması bizim verilerimizi desteklemektedir.

Bizde çalışmamızda yüksek karbonhidratlı diyet ile yüksek yağlı diyet arasında hem kilo alımı açısından hem de karaciğerde meydana getirdikleri harabiyet açısından anlamlı bir farklılık bulamadık. Yukarıda sözü geçen çalışmalarda kontrol gruplarında steatohepatitis ile ilgili histopatolojik bir bulguya rastlanmazken biz gerek kontrol grubumuzda gerekse deney grubumuzda steatohepatitis ile ilgili steatozis, fibrozis ve inflamasyon bulguları gördük ancak bu iki grubu kıyasladığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulamadık. Sadece biyokimyasal olarak 16 haftalık kontrol grubunda LDH ve 20 haftalık kontrol grubunda ise ALT yi anlamlı olarak yüksek bulduk. Bunun birinci nedeni; yüksek yağlı diyetin omega-9 yağ asidinden göreceli olarak zengin olması ve karaciğer üzerinde koruyucu etkisi olabileceği gibi, ikinci nedeni ise karbonhidrattan zengin diyetin karaciğer üzerine olumsuz etkileri olabilir.

Yüksek karbonhidratlı diyet hiperglisemiye, hiperglisemi ise hızlı insülin salgılanmasına, hiperinsülinemiye, insülin ve leptin direncine neden olmaktadır (2,3). Bunun sonucu olarak hepatositlerde yağ depolanması, lipid peroksidasyonu artışı, serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkması, oksidatif stres ve mitokondrial disfonksiyon oluşmaktadır (2).

Oboh ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada tavşanlarda yüksek karbonhidrat düşük yağ (HCLF) diyeti hepatoselüler hasarın göstergesi olarak hipertrigliseridemiye yol açmış, serum proteinini azaltmış ve AST, ALT ve ayrıca üre düzeyini de attırmıştır (70).

Lomba ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları çalışmada yüksek sükroz içeren diyet(HS) ile izokalorik kontrol diyeti karşılaştırılmış. HS diyeti adipoziteyi arttırmış, plazma total kolesterol ve HDL düzeyini azaltmıştır. Serum glukoz, insülin,

adiponektin, serbest yağ asitleri ve karaciğer malondialdehitleri açısından önemli bir farklılık bulunmamakla birlikte serum ve karaciğer tg'lerinde hafif bir artış gözlenmiştir. Bu sonuçlar yüksek sükröz diyetlerinin aşırı kilo alımı ve metabolik bozulmaya bağlı olabilecek adipoz dokuda mitokondrial disfonksiyonu indükleyebileceğini göstermiştir (71).

Başka çalışmalarda da yüksek karbonhidratlı diyetin hepatik steatozis (72-76) ve adipoz doku artışına neden olduğu gösterilmiştir (77).

Yüksek karbonhidrat diyetinin hepatik yağ sentezini arttırdığı, karaciğerde tg birikimine neden olduğu, ALT ve AST seviyelerini yükselttiği ve adipoz dokuda mitokondrial disfonksiyona yol açtığı gösterilmiştir (69-76).

Bu çalışmada 16 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubunda LDH'nin, 20 haftalık yüksek karbonhidratlı diyet grubunda ise ALT'nin yüksek çıkması karbonhidratların hepatosit hasarına neden olduğunu, göreceli olarak oleik asitten zengin yüksek yağlı diyetin ise koruyucu olduğu gösterilmiştir.

6. SONUÇ

Bu çalışma göreceli olarak omega-9'dan zengin yüksek yağlı diyetin karaciğer üzerinde koruyucu etki gösterdiğini ve yüksek karbonhidratlı diyetle karşılaştırıldığında kilo alımına neden olmadığı gibi yüksek karbonhidratlı diyetin daha fazla karaciğer hasarına yol açtığını göstermiştir. Bundan yola çıkarak kilo alımını önlemek ve karaciğeri korumak için oleik asitten zengin düşük karbonhidratlı beslenmeyi öneriyoruz.

7. KAYNAKLAR

- 1- Wilborn C, Beckham J, Campbell B, Harvey T, Galbreath M, Bounty PL, Nassar E, Wismann J, Kreider R. Obesity: Prevalence, Theories, Medical Consequences, Management, and Research Directions. Journal of the International Society of Sports Nutrition. 2005; 2(2): 4-31.
- 2- Karatay CE, Bilimsel Gerçeklerle Kilo Vermenin ABC'si: Karatay Diyeti. 7. baskı, pp.19-45, Hayykitap yayınevi, İstanbul, 2011.
- 3- Aydın A, Taş Devri Diyeti. 7. baskı, pp. 89, Hayykitap yayınevi, İstanbul, 2010.
- 4- Sonsuz A. Nonalkolik Karaciğer Yağlanması. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. 2007; 58: 91-98.
- 5- Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji. Ed: AYTEKİN Y, SOLAKOĞLU S, 11. baskı, pp.332-344, İstanbul: Nobel, 2006.
- 6- Sancak B, Cumhuriyet M, Fonksiyonel Anatomi. 3.baskı, pp.226-232, ODTÜ yayıncılık, Ankara, 2004.
- 7- Darke RL, Volg W, Mitchell AWM, Gray`s Anatomy for Student. pp. 285-306, Ed:Yıldırım M, Güneş Kitabevi , Ankara, 2007 .
- 8- Ellis H, Clinical Anatomy. 11.th, pp.93-98, Blackwell Publishing, UK, 2006.
- 9- Scanlon VC, Sanders T, Essentials of Anatomy and Physiology. 5.th, pp.379, F.A.Davis, USA,2007.
- 10-Moore KL, Persaud TVN, İnsan Embriyolojisi. Ed: Yıldırım M, Dalçık H, 8.baskı, pp. 218-221, Nobel, İstanbul, 2009.
- 11-Sadler TW, Langman Medical Embriyoloji. Ed: Başaklar AC, 7.baskı, pp.242-244, Palme Yayıncılık, Ankara, 1996.
- 12-Bulucu BZ. Yüksek lipid içerikli diyetin erişkin sıçan karaciğeri üzerine etkilerinin histokimyasal ve morfolojik yöntemlerle incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Yüksek Lisans Tezi, Erzurum 2004.
- 13- Kierszenbaum AL, Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. Ed: Demir R, pp. 459-472, Palme Yayıncılık, Ankara, 2006.
- 14- Gartner LP, Hiatt JL, Color Textbook of Histology. pp. 346-355, W.B. Saunders Company, 1997.

- 15- Terzi EH. Deneysel safra ligasyonuna bağlı oluşan karaciğer fibrozisine n-asetil sistein, askorbik asit ve sirolimusun etkilerinin ışık, elektron mikroskopik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal olarak incelenmesi. AİBÜ Tıp Fakóltesi, Histoloji ve Embriyoloji Uzmanlık Tezi, Bolu 2008.
- 16- Fawcett DW, Bloom and Fawcett A Textbook of Histology. 12th, pp.652-677, Chapman and Hall, 1994.
- 17- Arslan G. Yüksek dozda simvastatin`in ratlarda oluşturduğu hepatotoksisite üzerine n-asetilsistein`in etkisi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Yüksek Lisans Tezi, Konya 2008.
- 18- Erdoğan D, Grgn M, Hatiboğlu MT, Ilgaz C, zel Histoloji. pp.94-99, SBAD Yayınları, Ankara, 1996.
- 19- Ovalle WK, Nahirney PC, Netter Temel Histoloji. Ed: Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P, Güneş Kitabevi, Ankara, 2009.
- 20- Guyton AC, Hall JE, Tıbbi Fizyoloji. Ed: Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ, 11.baskı. pp 802,803,859-864, Nobel, İstanbul, 2007.
- 21- Ganong FW, Review of Medical Physiology. 22.th, McGraw-Hill Companies, USA, 2005.
- 22- Gülcan E, zkan A. Obezite. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2006;10:185-194.
- 23- Çöl M. Halk Sağlığı Yönünden Obezite. Ankara Üniversitesi Tıp Fakóltesi Mecmuası. 1998; 51(3): 173-176.
- 24- Altunkaynak Z, Effects of High Fat Diet Induced Obesity on Female Rat Livers (A Histochemical Study). Eur J Gen Med. 2005;2(3): 100-109.
- 25- Xu JZ, Fan JG, Ding XD, Qiao L, Wang GL. Characterization of High- Fat, Diet Induced, Non-alcoholic Steatohepatitis with Fibrosis in Rats. Dig Dis Sci.2009.
- 26- Medina J, Fernandez-Salazar LI, Garcia-Buey L, Moreno-Otero R. Approach to the Pathogenesis and Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. Diabetes Care. 2004; 27: 2057-2066.
- 27- Omagari K, Kato S, Tsuneyama K, İnohara C, Kuroda Y, Tsukuda H, Fukazawa E, Shiraishi K, Mune M. Effect of a Long-Term High-Fat Diet and Switching from a High-Fat to Low-Fat, Standart Diet on Hepatic Fat Accumulation in Sprague-Dawley Rats. Dig Dis Sci. 2008; 53: 3206-3212.

- 28- Reis SRL, Feres NH, Souza LMI, Veloso RV, Arantes VC, Kawashita NH, Colodel EM, Botosso BL, Carniero EM, Boscherro AC, Reis MAB, Latorraca MQ. Soybean diet reduces liver fat in recovered rats of protein restriction in early life. 18th European Congress on Obesity Bildiri Kitabı, s.145. 18th European Congress on Obesity, İstanbul, Türkiye, 25-28 Mayıs 2011.
- 29- Torres DDO, Santos ACO, Silva AKS, Leite JIA, Souza JRB, Beltrao EIC, Peixoto CA. Effect of Maternal Diet Rich in Omega-6 and Omega-9 Fatty Acids on the Liver of LDL Receptor-Deficient Mouse Offspring. *Birth Defects Research (Part B)*. 2010; 89: 164-170.
- 30- Lieber CS, Leo MA, Mak KM, Xu Y, Cao Q, Ren C, Ponomarenko A, DeCarli LM. Model of nonalcoholic steatohepatitis. *American J Clin Nutr*. 2004; 79(3): 502-509.
- 31- Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, Zhang L, Wang Y. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Life Sciences*. 2006; 79(11): 1100-1107.
- 32- Lionetti L, Mollica MP, Donizzetti I, Pignalosa A, Cavaliere G, Gifuni G, Odierna G, Gaita M, De Filippo C, Aversa R, Coppola M, Soriente I, Barletta A, Putti R. Mitochondrial morphology and functions are differently affected by high fat diet rich in lard or in fish oil in the development of hepatic injury. 18th European Congress on Obesity Bildiri Kitabı, s.50. 18th European Congress on Obesity, İstanbul, Türkiye, 25-28 Mayıs 2011.
- 33- Koppe SW, Elias M, Moseley RH, Gren RM. Trans fat feeding results in higher serum alanine aminotransferase and increased insulin resistance compared with a standard murine high-fat diet. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2009; 297(2): 378-384.
- 34- Gomez-Lechon MJ, Donato MT, Martinez-Romero A, Jimenez N, Castell JV, O'Connor JE. A human hepatocellular in vitro model to investigate steatosis. *Chem Biol Interact*. 2007; 165(2): 106-116.
- 35- Ricchi M, Odoardi MR, Carulli L, Anzivino C, Ballestri S, Pinetti A, Fantoni LI, Marra F, Bertolotti M, Banni S, Lonardo A, Carulli N, Loria P. Differential effect of oleic and palmitic acid on lipid accumulation and apoptosis in cultured hepatocytes. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2009; 830-840.

- 36- Hussein O, Grosovski M, Lasri E, Svalb S, Ravid U, Assy N. Monounsaturated fat decreases hepatic lipid content in non-alcoholic fatty liver disease in rats. *World J Gastroenterol.* 2007; 13(3): 361-368.
- 37- Romestaing C, Piquet MA, Bedu E, Rouleau V, Dautresme M, Hourmand-Ollivier I, Filippi C, Duchamp C, Sibille B. Long term highly saturated fat diet does not induce NASH in Wistar rats. *Nutrition & Metabolism .* 2007; 4:4.
- 38- Aydın A. Sağlığımız ve Omega-3 Yağ Asitleri. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. 2004; 41: 181-189.
- 39- Bayındır O, Ozmen D, Mutaf I, Turgan N, Habif S, Gültür C, Parildar Z, Uysal A. Comparison of the effect of dietary saturated, mono-, and n-6 polyunsaturated fatty acids on blood lipid profile, oxidant stress, prostanoid synthesis and aortic histology in rabbits. *Ann Nutr Metab.* 2002; 46(5); 222-228.
- 40- Henique C, Mansouri A, Furney G, Lenoir V, Girard J, Bouillaud F, Prip-Buus C, Cohen I. Increased mitochondrial fatty acid oxidation is sufficient to protect skeletal muscle cells from palmitate-induced apoptosis. *J Biol Chem.* 2010; 285(47): 36818-27.
- 41- Soumura M, Kume S, Isshiki K, Takeda N, Araki S, Tanaka Y, Sugimoto T, Chin-Kanasaki M, Nishio Y, Haneda M, Koya D, Kashiwagi A, Maegawa H, Uzu T. Oleate and eicosapentaenoic acid attenuate palmitate-induced inflammation and apoptosis in renal proximal tubular cell. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 402(2): 265-271.
- 42- Peng G, Li L, Liu Y, Pu J, Zhang S, Yu J, Zhao J, Liu P. Oleate blocks palmitate-induced abnormal lipid distribution, endoplasmic reticulum expansion and stress, and insulin resistance in skeletal muscle. *Endocrinology.* 2011; 152(6): 2206-2218.
- 43- Polo-Hernandez E, De Castro F, Garcia-Garcia AG, Taberero A, Medina JM. Oleic acid synthesized in the periventricular zone promotes axonogenesis in the striatum during brain development. *J Neurochem.* 2010; 114(6): 1756-1766.
- 44- Escrich E, Solanas M, Moral R, Escrich R. Modulatory effects and molecular mechanisms of olive oil and other dietary lipids in breast cancer. *Curr Pharm Des.* 2011; 17(8): 813-830.
- 45- Pauwels EK. The protective effect of the Mediterranean diet: focus on cancer and cardiovascular risk. *Med Princ Pract.* 2011; 20(2): 103-111.

- 46- Comba A, Maestri DM, Berra MA, Garcia CP, Das UN, Eynard AR, Pasqualini ME. Effect of ω -3 and ω -9 fatty acid rich oils on lipoxygenases and cyclooxygenases enzymes and on the growth of a mammary adenocarcinoma model. *Lipids Health Dis.* 2010; 9:112.
- 47- Skalicka-Wozniak K, Los R, Glowniak K, Malm A. Antimicrobial activity of fatty acids from fruits of *Peucedanum cervaria* and *P. Alsaticum*. *Chem Biodivers.* 2010; 7(11): 2748-2754.
- 48- Alexander JW, Metze TJ, McIntosh MJ, Goodman HR, First MR, Munda R, Cardi MA, Austin JN, Goel S, Safdar S, Greenberg N, Chen X, Woodle ES. The Influence of Immunomodulatory Diets on Transplant Success and Complications. *Transplantation.* 2005; 79: 460-465.
- 49- Vural P. Transforming Growth Factor- β 'nin Kanserde Baskılayıcı Rolü. *Türk Klinik Biyokimya Derg.* 2010; (8)1: 35-42.
- 50- Montgomery R, Conway TW, Spector A. *Biyokimya Olgu Sunumlu Yaklaşım.* Ed: Altan N, 6. baskıdan çeviri, pp.95, Ankara, Palme Yayıncılık, 2000.
- 51- Smith C, Marks A, Lieberman M. Mark'ın Temel Tıbbi Biyokimyası Klinik Yaklaşım. 2.baskı, Ed: İnal ME, Atik U, Aksoy N, Haşimi A. pp. 858-859, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 2007.
- 52- Baybutt CR, Molteni A. Dietary β -carotene protects lung and liver parenchyma of rats treated with monocrotaline. *Toxicology.* 1999; 137: 69-80.
- 53- Hyun Ryu M, Soo Cha Y. The effects of a high-fat or high-sucrose diet on serum lipid profiles, hepatic acyl-CoA synthetase, carnitine palmitoyltransferase-I, and the acetyl-CoA carboxylase mRNA levels in rats. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology.* 2003; 36(3): 312-318.
- 54- Chen SW, Chen YX, Shi J, Lin Y, Xie WF. The restorative effects of taurine on experimental nonalcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci.* 2006; 51(12): 2225-2234.
- 55- Kim YJ, Park T. Genes are differentially expressed in the epididymal fat of rats rendered obese by a high-fat diet. *Nutr Res.* 2008; 28(6): 414-422.
- 56- Jornayvaz FR, Jurczak MJ, Lee HY, Birkenfeld AL, Frederick DW, Zhang D, Zhang XM, Samuel VT, Shulman GI. A high-fat, ketogenic diet causes hepatic insulin resistance in mice, despite increasing energy expenditure and preventing weight gain. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010; 299(5): 808-815.

- 57- Jump DB. Fatty acid regulation of hepatic lipid metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2011; 14(2): 115-120.
- 58- Wang S, Kamat A, Pergola P, Swamy A, Tio F, Cusi K. Metabolic factors in the development of hepatic steatosis and altered mitochondrial gene expression in vivo. *Metabolism*. 2011.
- 59- Tanoue S, Uto H, Kumamoto R, Arima S, Hashimoto S, Nasu Y, Takami Y, Moriuchi A, Sakiyama T, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H. Liver regeneration after partial hepatectomy in rat is more impaired in a steatotic liver induced by dietary fructose compared to dietary fat. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011; 407(1): 163-168.
- 60- Lossa S, Crescenzo R, Bianco F, Falcone I, Coppola P, Liverini G. Mitochondrial energetics (muscle, liver), oxidative stress and diet. 18th European Congress on Obesity Bildiri Kitabı, s.31. 18th European Congress on Obesity, İstanbul, Türkiye, 25-28 Mayıs 2011.
- 61- Kucera O, Garnol T, Lotkova H, Stankova P, Mazurova Y, Hroch M, Bolehovska R, Rousar T, Cervinkova Z. The effect of rat strain, diet composition and feeding period on the development of a nutritional model of non-alcoholic fatty liver disease in rats. *Physiol Res*. 2011; 60(2): 317-328.
- 62- Hwang J, Jun HS, Shim E. Rates of Change in Fatty Acid Composition When Dietary Soybean Oil Is Switched to Olive Oil. *Journal of Health Science*. 2010; 56(3): 275-286.
- 63- Hammer CT, Wills ED. The role of Lipid Components of the Diet in the Regulation of the Fatty Acid Composition of the Rat Liver Endoplasmic Reticulum and Lipid Peroxidation. *Biochem J*. 1978; 174: 585-593.
- 64- White PJ, Linda M, Duvick P, Duvick S. Improving the fatty acid composition of corn oil by using germplasm introgression. *Lipid Technology*. 2006; 19(2): 35-38.
- 65- Parasarathy S, Khoo JC, Miller E, Barnett J, Witztum JL, Steinberg D. Low density lipoprotein rich in oleic acid is protected against oxidative modification: Implications for dietary prevention of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci*. 1990; 87:3894-3898.
- 66- Berry EM, Eisenberg S, Haratz D, Friedlander Y, Norman Y, Kaufmann NA, Stein Y. Effect of diets rich in monounsaturated fatty acids on plasma lipoproteins-

the Jerusalem Nutrition Study: high MUFAs vs high PUFAs. *Am J Clin Nutr* . 1991; 53: 899-907.

67- Riveros CG, Mestrallet MG, Gayol MF, Quiroga PR, Nepote V, Grosso NR. Effect of storage on chemical and sensory profiles of peanut pastes prepared with high-oleic and normal peanuts. *J Sci Food Agric*. 2010; 90(15): 2694-9.

68- Nakbi A, Tayeb W, Girssa A, Issaoui M, Dabbou S, Chargui I, Ellouz M, Miled A, Hammami M. Effect of olive oil and its fractions on oxidative stress and the liver's fatty acid composition in 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid-treated rats. *Nutr Metab*. 2010; 7:80.

69- Berke BM, Kaplan ML. Effect of high fat and high carbohydrate diets on development of hepatic and adipose lipogenesis in fa/fa and non-fa/fa rats. *J Nutr*. 1983; 113(4): 820-834.

70- Oboh HA, Omofoma CO, Olumese FE, Eiya B. Effects of High Carbohydrate Low Fat Nigerian-Like Diet on Biochemical Indices in Rabbits. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2007; 6(4): 399-403.

71- Lomba A, Milagro FI, Garcia-Diaz DF, Campion J, Marzo F, Martinez JA. A high-sucrose isocaloric pair-fed model induces obesity and impairs NDUF6 gene function in rat adipose tissue. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. 2009; 2(6): 267-272.

72- Haubert NJ, Padovan GJ, Zucoloto S, Vannucchi H, Marchini JS. Experimental induction of steatosis in different tissues after the ingestion of a carbohydrate-rich diet: effect on the liver, on the heart and on indicators of oxidation. *Arg Gastroenterol*. 2010; 47(4): 388-92.

73- Waddell M, Fallon HJ. The effect of high-carbohydrate diets on liver triglyceride formation in the rat. *The Journal of Clinical Investigation*. 1973; 52: 2725-2731.

74- Nseir W, Nassar F, Assy N. Soft drinks consumption and nonalcoholic fatty liver disease. 2010; 16(21): 2579-2588.

75- Tapply L, Schneiter Ph, Bortolotti M, Le KA. Hepatic lipotoxicity: modulation by nutrients. 18th European Congress on Obesity Bildiri Kitabı, s.10. 18th European Congress on Obesity, İstanbul, Türkiye, 25-28 Mayıs 2011.

76- Crescenzo R, Bianco F, Falcone I, Coppola P, Valiante S, Dulloo AG, Liverini G, Lossa S. Dietary fructose-induced obesity and insulin resistance: is there a role for altered hepatic mitochondrial energetics. 18th European Congress on Obesity Bildiri

Kitabı, s.149. 18th European Congress on Obesity, İstanbul, Turkiye, 25-28 Mayıs 2011.

77- Fuente-Martin E, Garcia-Caceres C, Diaz F, Sanchez Garrido MA, Granado M, Frago LM, Tena Sempere M, Argente J, Chowen JA. Interaction between neonatal over-nutrition and a subsequent sucrose-enriched diet on adipose tissue acquisition. 18th European Congress on Obesity Bildiri Kitabı, s.47. 18th European Congress on Obesity, İstanbul, Turkiye, 25-28 Mayıs 2011.

8. EK

Etik Kurul Raporu



T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL
DENEY HAYVANLARI ALT KURULU

Tarih: 14.10.2009
No:100/20

Sayın Dr. Meryem ÇAM

Aşağıda belirtilen araştırmanız Etik Kurulumuz tarafından ilgili yönetmelik ve yönergeler uyarınca evrensel etik kurallar çerçevesinde değerlendirilmiş ve oybirliği ile "uygun" bulunarak Etik Komite onayı verilmiştir.

Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.

Başkan

Doç. Dr. M. Tüvrik YAVUZ

Protokol No: 2009-20

Araştırmanın Adı: "Yüksek yağlı Diyetin Rat Karaciğeri Üzerine Etkileri"

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi
Konuralp 81620 DÜZCE
☎:380 542 11 28 Faks:380 542 11 29

